

LAPORAN MAGANG
DI BAGIAN PENGUJIAN MIKROBIOLOGI BALAI BESAR
PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN (BBPOM)
YOGYAKARTA
(ANALISIS MIKROBIOLOGIS ABON IKAN TUNA DAN KECAP)



Tugas Akhir ini Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Guna Mencapai Gelar Ahli Madya
Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret Surakarta

Oleh :
RATNA NUGRAHENI
H3107024

PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010

LAPORAN MAGANG
DI BAGIAN PENGUJIAN MIKROBIOLOGI BALAI BESAR PENGAWAS
OBAT DAN MAKANAN (BBPOM)
YOGYAKARTA
(ANALISIS MIKROBIOLOGIS ABON IKAN TUNA DAN KECAP)

Yang Disiapkan dan Disusun Oleh :

Ratna Nugraheni
H3107024

Telah dipertahankan di hadapan dosen penguji

Pada tanggal :

Dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing/Penguji I

Penguji II

Ir. MAM. Andriani, MS
NIP. 195005251986092001

Ir. Kawiji, MP
NIP. 196112141986011001

Menyetujui,

Dekan Fakultas Pertanian

Universitas Sebelas Maret Surakarta

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS
NIP. 195512171982031003

MOTTO

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Dan yang demikian itu sungguh berat kecuali bagi orang-orang yang khusyuk. Yaitu mereka yang yakin bahwa mereka akan menemui Rabbnya dan kembali kepadaNya
(Q.S Al Baqarah 45-46)

Motivasi diri adalah bahan bakar bagi kehidupan.
Percaya diri adalah gas penggerak kehidupan.
Tahu diri adalah rem yang mengendalikan
(Solikhin Abu Izzuddin)

“Ketelitian, kesabaran, keuletan, kejujuran adalah kunci sukses memperoleh keberhasilan”
“Keberhasilan tidak diukur dengan apa yang telah anda raih, namun kegagalan yang telah anda hadapi, dan keberanian yang membuat anda tetap berjuang juga membuat anda tetap berjuang melawan rintangan yang datang bertubi-tubi”
(Orison Swett Marden)

Dan bahwa setiap pengalaman mestilah dimasukkan ke dalam kehidupan, guna memperkaya kehidupan itu sendiri. Karena tiada kata akhir untuk belajar seperti juga tiada kata akhir untuk kehidupan
(Annemarie Schimmel).

Kesempatan untuk sukses disetiap kondisi selalu dapat diukur oleh seberapa besar kepercayaan pada diri sendiri (robert collier)
Tak ada rahasia untuk menggapai sukses. Sukses itu terjadi karena persiapan, kerja keras, dan mau belajar dari kegagalan
(Gen, Collin Powell)

Hanya ada satu pilihan: ke depan, maju dan terus maju. Tak ada kata mundur! Kita harus bisa...!

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala Puji bagi Allah SWT yang telah memberikan petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan magang ini. Karya kecil ini penulis persembahkan untuk :

- ❖ Bapak dan Ibu yang selalu memberikan limpahan kasih sayang dan terima kasih atas doa, dukungan, kesabarannya serta nasehat-nasehatnya selama ini
- ❖ Segenap keluarga besar penulis yang selalu memberi motivasi dan semangat untuk menjadi manusia yang berguna nusa dan bangsa serta bersahaja
- ❖ Semua karyawan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Yogyakarta, terima kasih atas bimbingan dan bantuannya selama magang
- ❖ Ibu Andri, terima kasih atas bimbingan dan bantuannya. Semoga dengan nasehat-nasehat yang Ibu berikan bisa menjadi semangat untuk menjadi pribadi yang lebih baik
- ❖ Almamaterku.....aku bangga padamu
- ❖ Temen-temenku seperjuangan (anak-anak THP 2007) Terima kasih atas dukungannya, semoga masa depan cerah mendampingi kita semua.....Amien!!!!!!
- ❖
- ❖ Teman-teman UKM BKKT UNS, terima kasih telah memberi semangat lewat tarian dan gendhing Jawa. "Kuncoro ruming bangsa Dunumung ana ing Budaya"
- ❖
- ❖ Teman-teman HIMADIPTA, terima kasih atas doa dan dukungannya. HIMADIPTA JAYA.....

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, serta inayahNya yang berupa kesehatan, lindungan, serta bimbingan kepada penulis, sehingga Tugas Akhir yang berjudul "Analisis Mikrobiologis Abon Ikan Tuna dan Kecap di Bagian Pengujian Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta" ini dapat diselesaikan dengan baik.

Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar Ahli Madya Program Studi Diploma III Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penyusunan Tugas Akhir ini tidak dapat terealisasi dengan baik tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ir. Bambang Sigit Amanto, MSi, selaku Ketua Program D III Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ir. Basito MSi, selaku pembimbing akademik mahasiswa Diploma Tiga Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2007.
4. Ir. MAM. Andriani, MS, selaku dosen pembimbing magang yang telah memberikan bimbingan dalam penulisan Tugas Akhir.
5. Ir. Kawiji, MP, selaku dosen penguji laporan magang.
6. Semua Dosen Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah banyak memberi ilmunya kepada kami.
7. Drs. Endang Kusnadi, M.Kes, Apt selaku Kepala Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan (BBPOM) Yogyakarta yang telah memberikan izin untuk melaksanakan magang.
8. Dra. Rossy Hertanti, MP, Apt selaku Kepala Bidang Pengujian Mikrobiologi.

9. Ibu Sulismiyati, Ibu Reny, dan Bapak Budiyanto selaku pembimbing Praktek Kerja Lapangan di laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Yogyakarta yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran, dan ilmunya.
10. Segenap karyawan yang telah membantu dalam menyelesaikan magang di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta.
11. Mbak Evy yang memberikan penginapan sementara dan membantu selama penulis melaksanakan magang.
12. Bapak dan Ibu serta segenap keluarga yang tercinta yang telah banyak membantu berupa materi dan dukungannya hingga selesainya laporan TA ini.
13. Teman magang Isti, terimakasih atas kerjasamanya selama magang.
14. Teman-teman seperjuangan DIII THP 2007 Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan dorongan, masukan, dan nasehatnya.
15. Teman-teman Wisma Ratna yang telah memberikan dorongan, masukan, dan Semangat.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Tugas Akhir ini masih banyak kekurangannya. Oleh karena itu, penulis sangat mengharap saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak untuk penyempurnaan yang lebih lanjut. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pada khususnya, dan dapat menambah wawasan pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juni 2010

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Magang.....	2
1. Tujuan Umum	2
2. Tujuan Khusus	2
C. Tujuan Khusus.....	2
1. Bagi Mahasiswa	2
2. Bagi Instansi Terkait.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Sampel	3
B. Media Pertumbuhan	6
1. Medium berdasarkan sifat fisik	7
2. Medium berdasarkan komposisi	7
3. Medium berdasarkan tujuan.....	7
C. Analisis Mikrobiologis Pangan	11
1. Uji Angka Lempeng Total (ALT)	11
2. Uji MPN <i>Coliform</i>	14
3. Uji <i>Salmonella</i>	16
4. Uji <i>Stapylococcus aureus</i>	22

5. Uji MPN <i>Eschericia coli</i>	25
6. Uji Angka Kapang	29
D. Identifikasi Bakteri	32
1. Fermentasi Karbohidrat	34
2. Uji MRVP	34
3. Uji Voges-Proskauer	35
4. Uji Produksi Indol	35
5. Penggunaan sitrat	36
6. Uji H ₂ S	36
BAB III. PELAKSANAAN MAGANG	38
A. Tempat Pelaksanaan Magang	38
B. Waktu Pelaksanaan Magang	38
C. Cara Pelaksanaan Magang	38
1. Observasi	38
2. Wawancara	38
3. Praktek Langsung	39
4. Mencatat	39
5. Studi Pustaka	40
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
A. Kajian Umum Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta	41
1. Keadaan Umum Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta	41
a. Lokasi Instansi	41
b. Data Umum Wilayah	41
c. Sejarah Singkat Berdirinya	42
d. Visi dan Misi	44
e. Tugas Pokok dan Fungsi	44
2. Manajemen Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta	46

a. Struktur Organisasi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta.....	46
b. Budaya Organisasi Balai Besar POM Yogyakarta ..	50
c. Ketenagakerjaan	50
B. Keadaan Khusus di Bagian Pengujian Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta	53
1. Laboratorium Pengujian Mikrobiologi BBPOM Yogyakarta	53
2. Peralatan atau Instrument.....	55
3. Pengujian Mikrobiologis Pada Produk Pangan	60
a. Uji Angka Lempeng Total (ALT) dalam Makanan dan Minuman.....	61
b. Uji Angka Paling Mungkin (MPN) <i>Coliform</i> dalam Makanan dan Minuman	62
c. Uji <i>Salmonella</i> dalam Makanan dan Minuman.....	63
d. Uji <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Makanan dan Minuman	65
e. Uji Angka Paling Mungkin (MPN) <i>Escherichia coli</i> dalam Makanan dan Minuman	66
f. Uji Angka Kapang dalam Makanan dan Minuman..	67
C. Kajian Pengujian Mikrobiologis Pada Abon Ikan Tuna dan Kecap.....	68
1. Pengujian Mikrobiologi Abon Ikan Tuna	68
a. Uji Angka Lempeng Total (ALT)	69
b. Uji MPN <i>Coliform</i>	71
c. Uji <i>Salmonella</i>	73
d. Uji <i>Staphylococcus aureus</i>	79
2. Pengujian Mikrobiologi Kecap.....	81
a. Uji Angka Lempeng Total (ALT)	81
b. Uji MPN <i>Coliform</i>	82

	c. Uji MPN <i>Eschericia coli</i>	84
	d. Uji Angka Kapang	88
BAB V.	PENUTUP	90
	A. Kesimpulan	90
	B. Saran	91
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan Tuna.....	4
Tabel 2.2 Spesifikasi Persyaratan Mutu Abon	5
Tabel 2.3 Spesifikasi Persyaratan Mutu Kecap	6
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Angka Mikrobiologis pada Abon Ikan Tuna	69
Tabel 4.2 Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif <i>Salmonella</i>	76
Tabel 4.3 Hasil Pengujian Mikrobiologis pada Kecap	81
Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif <i>Escherichia coli</i>	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1 Struktur Organisasi Balai Besar POM Yogyakarta	46
Gambar 4.2 Denah Laboratorium Mikrobiologi BBPOM Yogyakarta	54
Gambar 4.3 Top Loading Balance	56
Gambar 4.4 Hotplate Stirer	56
Gambar 4.5 Stomacher	57
Gambar 4.6 Tubimixer	57
Gambar 4.7 Laminar Air Flow	58
Gambar 4.8 Incubator	58
Gambar 4.9 Oven	59
Gambar 4.10 Autoclave	59
Gambar 4.11 Mikroskop	60

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Flow Chart Prosedur Uji Cemarkan Mikrobiologis
- Lampiran 2 Dokumentasi Pelaksanaan Kegiatan Magang
- Lampiran 3 Jadwal Kegiatan Magang di BBPOM Yogyakarta
- Lampiran 4 Daftar Presensi Hadir Kegiatan Magang BBPOM Yogyakarta
- Lampiran 5 Alur Pelaporan Sampel Mikrobiologi dan Kimia
- Lampiran 6 Tabel MPN Seri 3 tabung
- Lampiran 7 Surat Keterangan Selesai Magang
- Lampiran 8 Penilaian Kegiatan Magang
- Lampiran 9 Pengertian Terapeutik, NAPZA, Obat Tradisional, Kosmetik, Produk Komplemen, dan Bahan Berbahaya

ANALISIS MIKROBIOLOGIS ABON IKAN TUNA DAN KECAP DI
BAGIAN PENGUJIAN MIKROBIOLOGI BALAI BESAR PENGAWAS
OBAT DAN MAKANAN (BBPOM) YOGYAKARTA

Ratna Nugraheni¹
Ir. MAM. Andriani, MS² Ir. Kawiji, MP³

ABSTRAK LEPAS

Masalah di bidang pangan adalah masih tingginya tingkat kontaminasi mikroba pada makanan yang disajikan oleh berbagai industri makanan. Produk ikan dan kedelai serta olahannya merupakan jenis makanan yang berisiko tinggi terhadap bahaya kontaminasi. Dengan demikian perlu dilakukan pengamanan makanan terhadap pencemaran mikroba, khususnya yang berasal dari bahan makanan mentah terkait dengan rantai makanan mulai dari proses produksi sampai sebelum dikonsumsi.

Tujuan pelaksanaan magang adalah untuk menganalisa dan mengidentifikasi produk pangan Abon Ikan Tuna dan Kecap yang dihasilkan oleh pengolah untuk kemudian membandingkannya dengan SNI, sebagai pengkajian peningkatan mutu untuk menjamin keamanan pangan.

Pelaksanaan magang dilaksanakan di Bagian Pengujian Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta. Jalan Tompeyan Tegalrejo Yogyakarta, Email: bpom_yogyakarta@pom.go.id.

Pengujian sampel produk pangan selalu mengacu kepada persyaratan makanan yang sudah ditetapkan. Metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis sesuai dengan persyaratan yang diacu. Identifikasi mikroba dilakukan dengan cara konvensional dan pengujian cara cepat, disamping menggunakan reaksi biokimia.

Pengujian mikrobiologis abon ikan tuna sesuai persyaratan Abon Ikan Tuna (SNI 01-3707-1995) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN coliform, identifikasi Salmonella, angka Staphylococcus aureus. Pengujian mikrobiologis Kecap sesuai persyaratan Kecap (SNI 01-3543-1994) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN coliform, MPN Escherichia coli, angka kapang.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa berdasarkan pengujian laboratorium Abon Ikan Tuna untuk uji ALT 40 x 105 kol/g; uji MPN coliform 3 + APM/g; uji Salmonella negatif kol/25g; uji Staphylococcus aureus < 10 koloni dan Abon Ikan Tuna tidak memenuhi syarat (TMS) sesuai SNI 01-3707-1995. Pada Kecap, untuk ALT < 10 kol / g ; uji MPN coliform 3 + APM /g ; uji MPN E.coli < 3 APM/g ; uji Kapang < 10 kol/g dan kecap telah memenuhi syarat (MS) yang telah disyaratkan dalam SNI 01-3543-1994 serta aman untuk dikonsumsi.

Kata kunci: analisis mikrobiologis, Abon Ikan Tuna dan Kecap, Bagian Pengujian Mikrobiologi, Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan

¹ Mahasiswa Jurusan/Program Studi Diploma III Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan NIM H 3107024

² Pembimbing dan Penguji Utama

³ Penguji Kedua

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dewasa ini, kesadaran masyarakat pada pangan adalah memberikan perhatian terhadap nilai gizi dan keamanan pangan yang dikonsumsi. Faktor keamanan pangan berkaitan dengan tercemar tidaknya pangan oleh cemaran mikrobiologis, logam berat, dan bahan kimia yang membahayakan kesehatan. Keamanan pangan penting dalam menjamin pangan yang aman dan layak dikonsumsi.

Seiring dengan meningkatnya pengetahuan dan kesadaran akan kesehatan terhadap pangan yang dikonsumsi, mengonsumsi pangan yang aman merupakan hal yang harus diperhatikan oleh produsen dan konsumen. Berdasarkan UU Pangan No. 7 tahun 1996, keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Pangan yang aman adalah pangan yang tidak mengandung bahaya biologi atau mikrobiologi, bahaya kimia, dan bahaya fisik.

Penerapan peraturan yang berkaitan dengan keamanan pangan secara benar terbukti mampu meningkatkan keamanan pangan serta dapat mengurangi cemaran fisik, kimiawi, atau biologis dalam bahan pangan. Institusi pemerintah yang bertanggung jawab terhadap peredaran produk pangan di seluruh Indonesia adalah Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Badan Pengawasan Obat dan Makanan tidak hanya melakukan pengawasan terhadap pangan tetapi juga melakukan pengawasan terhadap peredaran produk terapeutik, narkotika, psikotropika, zat aktif lain, obat tradisional, kosmetik, dan bahan berbahaya.

Berdasarkan latar belakang diatas maka kegiatan pelaksanaan magang dilaksanakan di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta khususnya di Bagian Pengujian Mikrobiologi yaitu Laboratorium Mikrobiologi.

B. Tujuan Magang

1. Tujuan Umum

- a. Memperluas pengetahuan dan wawasan berpikir dalam menerapkan ilmu yang dipelajari serta keterkaitannya dengan bidang ilmu yang lain.
- b. Memperoleh pengalaman kerja secara langsung sehingga dapat membandingkan antara teori yang diperoleh dengan aplikasinya di lapangan.

2. Tujuan Khusus

Mengetahui prosedur kerja analisis mikrobiologis pada produk pangan di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Yogyakarta.

Mengetahui metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis.

Mengetahui pengawasan mutu secara mikrobiologis pada produk pangan.

Menganalisa dan mengidentifikasi produk pangan Abon Ikan Tuna dan Kecap yang dihasilkan oleh pengolah untuk kemudian membandingkannya dengan SNI, sebagai pengkajian peningkatan mutu untuk menjamin keamanan pangan.

C. Manfaat Magang

1. Bagi Mahasiswa

Mahasiswa mendapat data-data dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan khususnya di Bidang Pengujian Mikrobiologi sehingga dapat menjadi kajian dalam analisis mikrobiologis pada bahan atau produk pangan.

2. Bagi Instansi Terkait

- a. Menjalin kerjasama dan meningkatkan hubungan antara perguruan tinggi dengan instansi pemerintah atau perusahaan swasta dan masyarakat.
- b. Perguruan tinggi mendapat umpan balik (*feed back*) dari laporan magang di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta, guna pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Produk pangan merupakan produk yang tidak dapat lepas dari keseharian masyarakat. Sebagai contoh produk pangan yaitu abon dan kecap. Abon merupakan hasil olahan pangan dari daging yang disuwir-suwir atau dipisahkan seratnya, diproses dengan pengeringan kemudian ditambah bumbu-bumbu untuk meningkatkan cita rasa dan memperpanjang daya simpan. Pada umumnya, abon diolah dari daging sapi dan ayam, bahkan sekarang dapat diolah dari ikan.

Kecap juga salah satu jenis makanan yang banyak kita jumpai di toko-toko besar maupun di kedai-kedai, digunakan sebagai penambah rasa atau penyedap. Kecap adalah [bumbu dapur](#) atau [penyedap makanan](#) yang berupa cairan berwarna hitam yang rasanya manis atau asin.

Abon dan kecap merupakan salah satu produk olahan yang sudah dikenal banyak orang. Produk olahan pangan ini banyak dikonsumsi sehingga produk ini dapat menjadi sumber timbulnya penyakit akibat pangan yang disebabkan karena cemaran mikroba. Hal ini yang menjadikan produk pangan abon dan kecap dilakukan pengujian mikrobiologi.

Pengujian sampel makanan mengacu kepada persyaratan makanan yang telah ditetapkan dan metode yang digunakan sesuai dengan persyaratan yang diacu. Dalam analisis mikrobiologis ini, sampel yang akan diuji yaitu Abon Ikan Tuna dan Kecap.

Sampel

1. Abon Ikan Tuna

Abon termasuk makanan ringan atau lauk yang siap saji. Produk tersebut sudah dikenal oleh masyarakat umum sejak dulu. Abon dibuat dari daging yang diolah sedemikian rupa sehingga memiliki karakteristik kering, ringan, renyah dan gurih. Pada umumnya, daging yang digunakan dalam pembuatan abon yaitu daging sapi. Tetapi semua jenis daging seperti daging ayam bahkan ikan dapat digunakan sebagai bahan baku abon, salah satunya yaitu abon ikan tuna. Ikan merupakan salah satu sumber protein yang bermutu tinggi. Protein ikan merupakan sumber protein hewani yang lebih lengkap dibanding dengan protein nabati. Ikan mempunyai kandungan protein tinggi, tetapi rendah kandungan lemaknya sehingga memberikan banyak manfaat kesehatan bagi tubuh manusia. Salah satu cara pengawetan ikan adalah dengan mengolahnya menjadi

abon ikan. Adapun jenis ikan yang baik digunakan untuk abon adalah ikan tuna dan ikan marlin. Penggunaan ikan tuna akan menghasilkan serat abon yang sangat baik dan lembut. Kandungan gizi ikan tuna disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan Tuna

Komponen Zat Gizi	Ikan Tuna
Air (g)	70,58
Protein (g)	22
Mineral (g)	10,3
Lemak (g)	1,01
Karbohidrat (g)	0

(Suryani dkk, 2007)

Abon ikan merupakan salah satu produk olahan tradisional yang pengolahannya dengan pemanasan tertentu. Abon ikan dibuat dengan mencampurkan dan melumatkan antara daging ikan dan bumbu-bumbu yang disertai dengan pemanasan tertentu yaitu dengan penggorengan. Pada pembuatan abon ikan diperlukan pemberian bumbu-bumbu yang terdiri dari bawang merah, bawang putih, ketumbar, garam, gula kelapa, asam jawa, serih, lengkuas, santan (Anonim^a, 2010).

Abon ikan adalah makanan kering berbentuk khas dibuat dari daging ikan, direbus, disayat-sayat atau disuwir, dibumbui, dan digoreng dan dapat juga dipres. Abon terbuat dari berbagai jenis ikan. Karakteristik dasar ialah bau, rasa, warna adalah normal. Kadar air tidak lebih dari 7 %. Syarat mutu abon sesuai dengan tabel dibawah ini yaitu :

Tabel 2.2 Spesifikasi Persyaratan Mutu Abon

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bentuk	-	Normal
1.2	Bau	-	Normal
1.3	Rasa	-	Normal
1.4	Warna	-	Normal
2	Air	% b/b	Maks. 7

3	Abu	% b/b	Maks. 7
4	Abu tak larut dalam asam	% b/b	Maks. 0.1
5	Lemak	% b/b	Maks. 30
6	Protein	% b/b	Maks. 15
7	Serat kasar	% b/b	Maks. 1,0
8	Gula jumlah sabagai sakarosa	% b/b	Maks. 30
9	Pengawet	-	Sesuai SNI 01-0222-87
10	Cemaran Logam		
10.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 2,0
10.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20
10.3	Seng (Zn)	mg/kg	Maks. 40,0
10.4	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0
10.5	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,05
11	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks. 1,0
12	Cemaran mikroba		
12.1	Angka Lempeng Total	Koloni/g	Maks. 5×10^4
12.2	MPN	koloni/g	Maks. 10
12.3	<i>Salmonella</i>	koloni /25g	Negatif
12.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	Koloni/g	0

(SNI 01-3707-1995)

2. Kecap

Kecap merupakan jenis makanan cair hasil fermentasi kedelai. Meskipun bahan baku pembuatan kecap adalah kedelai hitam, tetapi tidak menutup kemungkinan kecap dibuat dari kedelai kuning. Kecap dapat dibuat melalui 3 cara, yaitu fermentasi, hidrolisis asam, dan kombinasi fermentasi dan hidrolisis asam. Kecap yang dibuat secara fermentasi biasanya mempunyai cita rasa dan aroma yang lebih disukai konsumen. Pada prinsipnya pembuatan kecap secara fermentasi berkaitan dengan penguraian protein, lemak, dan karbohidrat menjadi asam amino, asam lemak, dan monosakarida (Koswara, 1997).

Kecap adalah produk cair yang diperoleh dari hasil fermentasi dari kacang kedelai dengan penambahan bahan lain seperti gula, garam, rempah-rempah dengan atau tanpa bahan tambahan makanan yang diijinkan.

Tabel 2.3 Spesifikasi Persyaratan Mutu Kecap

No	Jenis Uji	Satuan	Manis/manis sedang	Asin/asin sedang
1	Keadaan			
1.1	Bau	-	Khas	Khas
1.2	Rasa	-	Khas	Khas
2	Protein, % b/b	-	Min 2.0	Min 4.0
3	Pemanis buatan	-	Negatif	Negatif
4	Pengawet			
	a. Benzoat atau	mg/kg	Maks 600	Maks 600
	b. Metal para ahidroksibenzoat	mg/kg	Maks 250	Maks 250
	c. Profir para	mg/kg	Maks 250	Maks 250
5	Cemaran logam			
5.1	Tembaga (Cu)	mg / kg	30,0	30,0
5.2	Timbal (Pb)	mg / kg	1,0	1,0
5.3	Raksa (Hg)	mg / kg	0,05	0,05
5.4	Seng (Zn)	mg / kg	40,0	40,0
5.5	Timah (Sn)	mg / kg	40,0	40,0
6	Cemaran Arsen (As)		0,5	0,5
7	Cemaran mikroba			
7.1	ALT	koloni/g	Maks 10^5	Maks 10^5
7.2	Bakteri bentuk coli	APM/g	Maks 10^2	Maks 10^2
7.3	Angka <i>E. coli</i>	APM/g	< 3	< 3
7.4	Kapang	koloni/g	Maks 50	Maks 50

APM : Angka Paling Mungkin

(SNI 01-3542-1994)

Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya. Macam-macam media pertumbuhan mikroorganisme yaitu

1. Medium berdasarkan sifat fisik

a. Medium padat

Yaitu media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat.

b. Medium setengah padat

Yaitu media yang mengandung agar 0,3-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Media semi solid dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan

mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami pencampuran sempurna jika tergoyang. Misalnya bakteri yang tumbuh pada media NFB (*Nitrogen Free Bromthymol Blue*) semisolid akan membentuk cincin hijau kebiruan di bawah permukaan media, jika media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur. Semisolid juga bertujuan untuk mencegah atau menekan difusi oksigen, misalnya pada media *Nitrate Broth*, kondisi anaerob atau sedikit oksigen meningkatkan metabolisme nitrat tetapi bakteri ini juga diharuskan tumbuh merata diseluruh media.

c. Medium cair

Yaitu media yang tidak mengandung agar, contohnya adalah NB (*Nutrient Broth*), LB (*Lactose Broth*).

2. Medium berdasarkan komposisi

a. Medium sintesis

Yaitu media yang komposisi zat kimianya diketahui jenis dan takarannya secara pasti, misalnya *Glucose Agar*, *Mac Conkey Agar*.

b. Medium semi sintesis

Yaitu media yang sebagian komposisinya diketahui secara pasti, misalnya PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Untuk bahan ekstrak kentang, kita tidak dapat mengetahui secara detail tentang komposisi senyawa penyusunnya.

c. Medium non sintesis

Yaitu media yang dibuat dengan komposisi yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya, misalnya *Tomato Juice Agar*, *Brain Heart Infusion Agar*, *Pancreatic Extract*.

3. Medium berdasarkan tujuan

a. Media untuk isolasi

Media ini mengandung semua senyawa esensial untuk pertumbuhan mikroba, misalnya *Nutrient Broth*, *Blood Agar*.

b. Media selektif/penghambat

Media yang selain mengandung nutrisi juga ditambah suatu zat tertentu sehingga media tersebut dapat menekan pertumbuhan mikroba lain dan merangsang

pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contohnya adalah *Luria Bertani Medium* yang ditambah *Amphisilin* untuk merangsang *E.coli* resisten antibiotik dan menghambat kontaminan yang peka, *Ampiciline*. *Salt broth* yang ditambah NaCl 4% untuk membunuh *Streptococcus agalactiae* yang toleran terhadap garam.

c. Media diperkaya (*enrichment*)

Media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks seperti darah, serum, kuning telur. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya membutuhkan nutrisi sederhana untuk berkembang biak, tetapi membutuhkan komponen kompleks, misalnya *Blood Tellurite Agar*, *Bile Agar*, *Serum Agar*, dan lain-lain.

d. Media untuk peremajaan kultur

Media umum atau spesifik yang digunakan untuk peremajaan kultur

e. Media untuk menentukan kebutuhan nutrisi spesifik.

Media ini digunakan untuk mendiagnosis atau menganalisis metabolisme suatu mikroba. Contohnya adalah *Koser's Citrate medium*, yang digunakan untuk menguji kemampuan menggunakan asam sitrat sebagai sumber karbon.

f. Media untuk karakterisasi bakteri

Media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan spesifik suatu mikroba. Kadang-kadang indikator ditambahkan untuk menunjukkan adanya perubahan kimia. Contohnya adalah *Nitrate Broth*, *Lactose Broth*, *Arginine Agar*.

g. Media diferensial

Media ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba dari campurannya berdasar karakter spesifik yang ditunjukkan pada media diferensial, misalnya TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) yang mampu memilih *Enterobacteria* berdasarkan bentuk, warna, ukuran koloni dan perubahan warna media di sekeliling koloni (Anonim^b, 2008).

Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media. Berikut ini beberapa media yang sering digunakan secara umum dalam mikrobiologi.

a. *Plate Count Agar* (PCA)

Digunakan sebagai medium untuk mikroba aerobik dengan inokulasi di atas permukaan. PCA dibuat dengan melarutkan semua bahan (*casein enzymic hydrolysate*, *yeast extract*, *dextrose*, agar) hingga membentuk suspensi 22,5 g/L kemudian disterilisasi pada autoklaf (15 menit pada suhu 121°C). Media PCA ini baik untuk pertumbuhan total mikroba (semua jenis mikroba) karena di dalamnya mengandung komposisi *casein enzymic hydrolysate* yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen kompleks lainnya serta ekstrak yeast mensuplai vitamin B kompleks.

b. *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Digunakan untuk menumbuhkan atau mengidentifikasi yeast dan kapang. Dapat juga digunakan untuk enumerasi yeast dan kapang dalam suatu sampel atau produk makanan. PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri. Cara membuat PDA adalah mensuspensikan 39 g media dalam 1 liter air yang telah didestilasi. campur dan panaskan serta aduk. Didihkan selama 1 menit untuk melarutkan media secara sempurna. Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan hingga suhu 40-45°C dan tuang dalam cawan petri dengan pH akhir $5,6 \pm 0,2$.

c. *Eosyn Methylen Blue Agar* (EMBA)

Media *Eosin Methylene Blue* mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam. Sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya eosin dan metilen blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian, jika media ini digunakan pada tahap awal karena kuman lain juga tumbuh terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella sp* dapat menimbulkan keraguan.

Bagaimanapun media ini sangat baik untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E.coli*.

Agar EMB merupakan media padat yang dapat digunakan untuk menentukan jenis bakteri *coli* dengan memberikan hasil positif dalam tabung. EMB yang menggunakan eosin dan metilen blue sebagai indikator memberikan perbedaan yang nyata antara koloni yang meragikan laktosa dan yang tidak. Untuk mengetahui jumlah bakteri *coli* umumnya digunakan tabel *Hopkins* yang lebih dikenal dengan nama MPN (*Most Probable Number*) atau tabel JPT (jumlah perkiraan terdekat), tabel tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri coli dalam 100 ml dan 0,1 ml contoh air.

d. Nutrient Agar

Nutrien agar adalah medium umum untuk uji air dan produk pangan. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. NA merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, produk pangan, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Untuk komposisi nutrisi agar adalah ekstrak beef 10 g, pepton 10 g, NaCl 5 g, air desitilat 1.000 ml dan 15 g agar/L. Agar dilarutkan dengan komposisi lain dan disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. Kemudian siapkan wadah sesuai yang dibutuhkan (Fathir, 2009).

Analisis Mikrobiologis Pangan

Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan lebih tepatnya ALT aerob mesofil atau anaerob mesofil

menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (cfu) per ml atau per gram atau koloni/100ml. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes dan cara sebar (BPOM, 2007).

Metode hitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks bagi jumlah organisme yang dapat hidup yang terkandung dalam sampel. Dan mencawakan hasil pengenceran tersebut. Setelah inkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan diamati. Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni ialah yang mengandung antara 30 sampai 300 koloni. Karena jumlah mikroorganisme dalam sampel tidak diketahui sebelumnya, maka untuk memperoleh sekurang-kurangnya satu cawan yang mengandung koloni dalam jumlah yang memenuhi syarat tersebut maka harus dilakukan sederatan pengenceran dan pencawanan. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan. Cara ini yang paling umum digunakan untuk perhitungan jumlah mikrobial. Dasarnya ialah membuat suatu seri pengenceran bahan dengan kelipatan 10 dari masing-masing pengenceran diambil 1 cc dan dibuat taburan dalam petridish (*pour plate*) dengan medium agar yang macam caranya tergantung pada macamnya mikrobial. Setelah diinkubasikan dihitung jumlah koloni tiap petridish dapat ditentukan jumlah bakteri tiap cc atau gram contoh, yaitu dengan mengalikan jumlah koloni dengan kebalikan pengencerannya, misalnya untuk pengenceran 1:10.000 terdapat 45 koloni bakteri maka tiap cc atau gram bahan mengandung 450.000 bakteri. Untuk membantu menghitung jumlah koloni dalam petridish dapat digunakan *colony counter* yang biasanya dilengkapi *electronic register*. Pada perhitungan dengan cara ini diperlukan beberapa syarat yang harus dipenuhi yaitu

- 1) Jumlah bakteri tiap petridish antara 30-300 koloni, jika memang tidak ada yang memenuhi syarat dipilih yang jumlahnya mendekati 300.
- 2) Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas petridish, koloni tersebut dikenal sebagai *spreader*.
- 3) Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka, yaitu angka pertama didepan koma dan angka kedua dibelakang koma
- 4) Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan angka kurang 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung.

Hasil dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.

- 5) Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih besar dari 300 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
- 6) Jika cawan dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2 maka tentukan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil (Jutono et al, 1973).

Mungkin yang paling sering dan banyak digunakan adalah prosedur perhitungan dengan penumbuhan dalam agar. Secara sederhana suatu contoh suspense sel atau bahan pangan homogen diinokulasikan ke dalam atau ke atas media Nutrient Agar setelah diinkubasi, jumlah koloni yang terbentuk dihitung. Karena satu koloni terbentuk dari satu sel maka jumlah koloni menunjukkan jumlah sel dalam larutan asalnya. Prosedur ini hanya menghitung sel-sel hidup dan sangat peka. Suspense contoh yang mengandung sejumlah kecil sel hingga 20 sel/ml dapat dihitung, dan kemungkinan untuk mengetahui berbagai jenis organisme yang berada dalam contoh dari perbedaan bentuk koloni yang tumbuh serta kemungkinan mengisolasi tipe koloni yang paling dominan untuk identifikasi taksonomi. Perhitungan secara penumbuhan dalam cawan petri dapat dilakukan dengan menggunakan tiga metode yaitu:

a. Metode Penuangan

Dalam metode penuangan, 1 ml contoh di pindahkan ke dasar cawan dan dituangkan di atasnya 15-20 ml media agar yang telah dididihkan sampai 45°C sampai 50°C dan dicampur merata mungkin. Setelah inkubasi, koloni baik yang tumbuh didalam agar atau di permukaannya dihitung. Prosedur ini termasuk yang paling peka, sampai sejumlah 20 sel/ml dapat dihitung.

b. Metode Penyebaran

Metode ini dilakukan dengan menggunakan 0,1 ml larutan contoh disebar ratakan di permukaan media agar yang tersedia dengan tongkat gelas melengkung (*bent glass rod*) yang telah disterilkan. Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh di permukaan dari media dihitung. Karena penggunaan volume larutan yang sedikit yaitu 0,1 ml, maka kepekaannya sekitar 300 sel/ml.

c. Metode Penetesan dalam cawan

Dalam prosedur penetesan pada cawan, media yang telah dipersiapkan terlebih dahulu dibagi-bagi menjadi 3 atau 4 sektor dan setetes larutan contoh (0,02 ml) dipindahkan ke masing-masing sektor. Setelah tetesan tersebut dibiarkan kering, cawan petri kemudian diinkubasi. Pengenceran contoh diatur sedemikian rupa sehingga diperoleh antara 5 sampai 20 koloni terbentuk dari setiap tetesan pada permukaan media agar. Satu keuntungan metode ini adalah bahwa perhitungan dapat dilakukan 3-4 kali ulangan sekaligus dalam satu cawan (Buckle dkk, 1985).

Uji MPN Coliform

Coliform merupakan suatu grup bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi kotoran dan kondisi yang tidak baik terhadap air, makanan, susu dan produk-produk susu. *Coliform* sebagai suatu kelompok dicirikan sebagai bakteri berbentuk batang, gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik dan anaerobik fakultatif yang memfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35°C. Adanya bakteri *Coliform* di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik dan atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan (Widiyanti et al, 2004).

Teknik *Most Probable Number* (MPN) banyak digunakan untuk menghitung populasi mikroba dalam bahan atau produk pangan. Penghitungan mikroba dengan teknik MPN merupakan kombinasi antara pertumbuhan populasi mikroba dan Tabel *Mc Crady*. Teknik MPN didasarkan pada pengenceran contoh. Prinsipnya, bila contoh diencerkan terus menerus maka akhirnya akan diperoleh larutan yang tidak mengandung mikroba (steril). Teknik ini akan memberikan hasil baik bila asumsinya terpenuhi, yaitu

- a. Sel mikroba tersebar merata dalam contoh dimana gaya tarik atau tolak diantara mikroba tidak terjadi
- b. Larutan yang diinokulasi ke kaldu nutrien akan memperlihatkan pertumbuhan positif apabila mengandung satu atau lebih mikroba hidup;
- c. Terhindar dari pencemaran yang berasal dari bahan dan peralatan (Afrianto, 2008).

Metode MPN digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif, yaitu yang ditumbuhi oleh mikroba setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan atau terbentuknya gas didalam tabung durham untuk mikroba pembentuk gas. Pada umumnya untuk setiap

pengenceran digunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak. Dalam metode MPN, pengenceran harus dilakukan sedemikian rupa sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung satu sel mikroba, beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel, sedangkan tabung lainnya tidak mengandung sel. Dengan demikian, setelah inkubasi diharapkan terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung yang dinyatakan sebagai tabung positif, sedangkan tabung lainnya negatif. (Fardiaz, 1993).

Hasil analisa metode MPN didapatkan dari mencocokkan dengan tabel MPN, yaitu tabel yang memberikan *The Most Probable Number* atau Jumlah Perkiraan Terdekat, yang tergantung dari kombinasi tabung positif (yang mengandung bakteri *Coli*) dan negatif (yang tidak mengandung bakteri *Coli*) dari kedua tahap tes. Angka MPN tersebut mempunyai arti statistik dengan derajat kepercayaan (*level of signifiacncy*) 95 %

- a. Apabila hasil tabung yang positif terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN, maka jumlah bakteri *E. coli* dan *Coliform* dihitung menggunakan tabel MPN.
- b. Apabila hasil tabung yang positif tidak terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN maka jumlah bakteri *E. coli* dan *Coliform* dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$\text{Jumlah Bakteri (JPT/100 ml)} = \frac{Ax100}{\sqrt{BxC}}$$

Keterangan : A = jumlah tabung yang positif
 B = volume (ml) sampel dalam tabung yang negatif
 C = volume (ml) sampel dalam semua tabung

(Nuria et al, 2009).

Uji Salmonella

Salmonella adalah bakteri gram negatif berbentuk batang bukan pembentuk spora yang terdiri dari sekitar 2500 serotipe yang kesemuanya diketahui bersifat patogen baik pada manusia atau hewan, aerob atau fakultatif anaerob. Dapat memfermentasi glukosa dengan membentuk asam atau gas dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Mempunyai sifat katalase positif dan oksidase negatif serta mudah tumbuh pada kebanyakan media. Bakteri ini bukan indikator sanitasi, melainkan bakteri

indikator keamanan pangan. Artinya, karena semua serotipe *Salmonella* yang diketahui di dunia ini bersifat patogen maka adanya bakteri ini dalam air atau makanan dianggap membahayakan kesehatan. Oleh karena itu berbagai standar air minum maupun makanan siap santap mensyaratkan tidak ada *Salmonella* dalam 100 ml air minum atau 25 gram sampel makanan (Dewanti dan Hariyadi, 2005).

Genus *Salmonella* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, adalah bakteri gram negatif berbentuk batang langsing ($0.7 - 1.5 \times 2-5 \mu\text{m}$), fakultatif anaerobik, oksidase negatif, dan katalase positif. Sebagian besar strain motil dan memfermentasi glukosa dengan membentuk gas dan asam. tetapi tidak laktose, menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, menghasilkan hidrogen sulfida, *decarboxylate lysine* dan ornithine, tidak menghasilkan indol, dan negatif untuk urease. Merupakan bakteri mesophylic, dengan suhu pertumbuhan optimum antara $35^{\circ} - 37^{\circ}\text{C}$, tetap dapat tumbuh pada range $5^{\circ} - 46^{\circ}\text{C}$. Dapat dimatikan pada suhu dan waktu pasteurisasi, sensitif pada pH rendah ($\leq 4,5$) dan tidak berbiak pada A_w 0,94, khususnya jika dikombinasikan dengan pH 5,5 atau kurang. Sel-selnya dapat bertahan pada pembekuan dan bentuk kering dalam waktu yang lama. *Salmonella* mampu berbiak pada berbagai makanan tanpa mempengaruhi tampilan kualitasnya (Purwanti, 2004).

Ada empat jenis media yang dapat digunakan untuk memilah *Salmonella* dari mikroba lain, yaitu :

a. Media agar *Bismuth Sulfite*

Merupakan media yang sangat spesifik untuk isolasi *Salmonella typhii* dan spesies lain. Adanya *Bismuth Sulfite* dan *Brilliant Green* dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan *Coliform*. Adanya S dalam media akan diubah menjadi H_2S yang berperan mengendapkan besi, sehingga koloni berwarna coklat hitam dengan kilap logam. Mikroba lain yang dapat tumbuh antara lain *Pseudomonas*, *Shigella* dan *Vibrionaceae*. Media ini sangat baik digunakan pada tahap awal untuk memilahkan *Salmonella* dari mikroba lain. Sedangkan mikroba lain yang tumbuh terutama *Pseudomonas* dapat dipilah dengan media lain.

b. Media agar *Brilian green*

Media ini mengandung *brilian green* yang sangat baik untuk menghambat *E. coli* dan bakteri yang memfermentasi sukrosa dan laktosa. Garam empedu berperan menghambat bakteri untuk batang gram negatif. Media ini sangat selektif untuk isolasi *Salmonella sp.* *Salmonella typhii* akan berwarna merah dikelilingi zona merah. *Pseudomonas* dihambat, tetapi jika tumbuh menyerupai koloni *Salmonella* berwarna

merah. Untuk menetapkan kontaminan tersebut *Salmonella* atau *Pseudomonas* diperlukan konfirmasi dengan media lain.

c. Media agar *Xylose-Lysine-Desoxycholate*

Media ini digunakan untuk isolasi *Salmonella* dan memilah organisme lain dengan cara memfermentasi xylose, dekarboksilasi lysine dan produksi H₂S. Fermentasi xylose sangat lazim bagi kebanyakan organisme enterik kecuali, *Shigella*, *Providencia*, *Edwardsiella*. Pada media ini, *Salmonella* akan membentuk koloni merah dengan inti hitam, sedang *Pseudomonas* dapat tumbuh dengan warna merah dan *Eschericia* berwarna kuning. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Arizona*, *Proteus*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*. Begitu banyak mikroba yang dapat tumbuh, sehingga media ini kurang dapat memilah *Salmonella* pada tahap awal. Lebih baik digunakan untuk tahap konfirmasi kontaminan *Salmonella*.

d. *Triple Sugar Iron Agar* medium,

Biasanya digunakan untuk konfirmasi pengujian *E.coli* dan dapat digunakan untuk identifikasi bakteri gram negatif yang memfermentasi dekstrosa atau laktosa atau sukrosa dan produksi H₂S. Dari fungsi tersebut media ini dapat diusulkan untuk konfirmasi *Salmonella* dan memilahkan dari *Pseudomonas* yang tumbuh pada media BSA dan BGA. Terjadinya fermentasi dekstrosa oleh *Salmonella* akan menurunkan pH menjadi asam. Kondisi ini akan menyebabkan perubahan phenol red (media merah) menjadi kuning. Sedangkan *Pseudomonas* karena tidak mampu memfermentasi dekstrosa, maka media akan tetap berwarna merah. Dengan demikian media ini dapat dengan mudah memilah *Salmonella* dari *Pseudomonas* (Afrianto, 2008).

Bakteri enteropatogenik adalah kelompok bakteri penyebab infeksi gastrointestinal, misalnya *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, dan *Yersini enterocolitica*. Uji bakteri enteropatogenik dapat dibedakan atas dua macam, yaitu uji kuantitatif dan uji kualitatif. Bakteri enteropatogenik pada umumnya terdapat dalam jumlah kecil di dalam makanan. Meskipun demikian jumlah tersebut sudah cukup untuk dapat menimbulkan gejala sakit. Oleh karena itu dalam uji kuantitatif, kadang-kadang bakteri-bakteri tersebut tidak dapat terdeteksi karena pertumbuhannya tertutup oleh mikroba-mikroba lainnya yang terdapat di dalam makanan. Dengan alasan uji kuantitatif dianggap tidak efisien dilakukan terhadap bakteri enteropatogenik, dan cukup hanya dilakukan uji kualitatif. Dalam uji kualitatif diperlukan beberapa tahap untuk dapat memperbanyak jumlah bakteri-bakteri patogen tersebut sehingga memudahkan untuk mendeteksi dan mengisolasinya. Tahap-tahap tersebut terdiri dari :

- a. Tahap perbanyak (*enrichment*), yaitu memperbanyak jumlah bakteri yang akan diuji, sedangkan bakteri lainnya dihambat pertumbuhannya. Jika diperlukan tahap ini dapat dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap *pre enrichment* dan *enrichment*.
- b. Tahap seleksi, yaitu menumbuhkan pada medium selektif sehingga koloni bakteri yang akan diuji mudah diisolasi.
- c. Tahap isolasi, yaitu memisahkan bakteri yang akan diuji dengan mikroba lainnya.
- d. Identifikasi primer, yaitu membedakan bakteri yang akan diuji dari bakteri-bakteri lainnya yang sifat-sifatnya sangat berbeda.

Untuk identifikasi primer bakteri enteropatogenik pada umumnya digunakan media TSI (*Triple Sugar Iron*) Agar dan medium LIM (*Lysine Indole Motility*) atau media SIM (*Sulfite Indol Motility*). Medium TSI yang digunakan dalam bentuk agar miring, sedangkan medium LIM dan SIM dalam bentuk agar tegak. Khusus untuk *V. parahaemolyticus*, ketiga medium tersebut harus ditambahkan dengan 3 % NaCl.

Pada agar TSI dapat diketahui terjadinya fermentasi glukosa, laktosa dan atau sukrosa, produk gas dari glukosa dan produksi hidrogen sulfida (H_2S). Warna merah menunjukkan reaksi basa dan diberi kode B, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam dan diberi kode A. Pembentukan H_2S ditandai dengan timbulnya warna hitam, sedangkan pembentukan gas dari glukosa ditandai dengan terbentuknya rongga-rongga di bagian bawah agar. Warna merah (B) pada permukaan dan kuning (A) pada bagian bawah tabung, diberi kode B/A, yaitu menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan fruktosa. Warna kuning pada bagian permukaan dan bawah tabung diberi kode A/A, yaitu menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa.

Produksi *lisin dekarboksilase* ditandai dengan pembentukan warna ungu, dan jika memproduksi enzim tersebut medium berwarna kuning. Pembentukan H_2S ditandai dengan terbentuknya warna hitam. Pembentukan indol dapat dilihat dengan terbentuknya warna merah jika ditambah pereaksi Kovacs, atau terbentuknya warna merah muda pada kertas asam oksalat yang dicelupkan setengahnya pada medium tersebut. Sifat motilitas bakteri enteropatogenik dapat dilihat dengan petumbuhan yang menyebar disekeliling tempat penusukan kultur. *Salmonella sendai*, *S. abortusequi*, *S. gallinarum*, dan *S. berta*, serta beberapa galur *S. cholerae-suis* biasanya tidak memproduksi H_2S .

- e. Identifikasi lengkap, yaitu membedakan bakteri yang diuji dari bakteri-bakteri lainnya yang sekelompok dengan sifat-sifat yang hampir sama.

Isolat yang diduga merupakan bakteri enteropatogenik berdasarkan uji identifikasi primer harus dilakukan identifikasi lengkap. Uji identifikasi bakteri

biasanya dilakukan dengan berbagai uji biokimia dan morfologi, uji-uji tersebut biasanya terlalu kompleks sehingga tidak efisien untuk dilakukan secara rutin. Uji bakteri enteropatogenik dapat dilakukan secara cepat, terutama bila kita sudah menduga jenis bakteri patogen dilihat dari jenis makanannya atau gejala-gejala yang ditimbulkannya terhadap penderita. Untuk bakteri enteropatogenik seperti *Salmonella*, uji serologi sangat membantu dalam identifikasi. Tetapi untuk identifikasi secara lengkap harus diperkuat dengan uji-uji biokimia.

Uji serologi adalah membedakan bakteri berdasarkan sifat-sifat antigeniknya. Antigen adalah suatu senyawa, biasanya mempunyai berat molekul tinggi, yang jika disuntikan ke dalam tubuh manusia atau hewan dapat merangsang produksi antibodi di dalam tubuh, dan antigen ini kemudian dapat dinetralkan atau bereaksi dengan antibodi terhadap antigen tersebut. *Salmonella* dan jenis-jenis lainnya di dalam famili *Enterobacteriaceae* mempunyai beberapa jenis antigen yaitu antigen O (somatik), H (flagella), K (Kapsul), dan Vi (kapsul virulen).

Antigen O (somatik) terdiri dari lipopolisakarida yang mengandung glukosamin dan terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif. Huruf O yang digunakan berasal dari kata “*ohne hauch*” dalam bahasa Jerman yang berarti tanpa film. Antigen ini pada umumnya bersifat tidak tahan panas, kecuali yang terdapat pada galur. Antigen ini menentukan penggolongan serotip jenis salmonella, yang mempunyai kurang lebih 65 antigen somatik yang diberi nomor 1 sampai 65.

Antigen H atau *flagella* adalah suatu protein yang disebut *flagellin* dan bersifat tidak tahan panas. Huruf H berasal dari kata dalam bahasa Jerman “*hauch*” yang berarti film, yaitu suatu ciri pertumbuhan bakteri yang mempunyai flagella. Antigen H dapat dibedakan menjadi dua yaitu antigen yang spesifik (fase 1) karena mula-mula diduga hanya terdapat pada group somatik tertentu, dan antigen tidak spesifik (fase 2). Beberapa galur *Salmonella* misalnya *S. typhi* mengandung antigen kapsul yang bersifat virulen yang dinyatakan dengan huruf Vi. Antigen Vi pada *Salmonella* mempengaruhi daya virulen *Salmonella* (Fardiaz, 1993).

Uji Angka Staphylococcus aureus

Sistematika *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Divisi : *Protophyta*

Kelas : *Schizomycetes*

Bangsa : *Eubacteriales*

Suku : *Micrococcaceae*

Marga : *Staphylococcus*

Jenis : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan gram positif, tumbuh dalam kelompok seperti anggur, berbentuk bulat, tidak motil, tidak membentuk spora dan tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur, mudah tumbuh pada berbagai media pembenihan. Pada pembenihan *Staphylococcus aureus* berwarna kuning emas, selain itu bakteri ini bersifat anaerob, meragikan glukosa, tidak meragikan manitol, koagulasi negatif dan pada media agar darah tidak mengalami hemolisis. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada kulit, saluran nafas, saluran pencemaran, udara, makanan, air dan pakaian yang terkontaminasi (Aulia, 2008).

Staphylococcus aureus adalah suatu bakteri penyebab keracunan yang memproduksi enterotoksin. Bakteri ini sering ditemukan pada makanan-makanan yang mengandung protein tinggi, misalnya sosis, telur, dan sebagainya. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter 0,7-0,9 μm , dan termasuk dalam familia *Micrococcaceae*. Bakteri ini tumbuh secara anaerobik fakultatif dengan membentuk kumpulan sel-sel seperti buah anggur. *S. aureus* tahan garam dan tumbuh baik pada médium yang mengandung 7,5 % NaCl, serta dapat memfermentasi manitol. Bakteri ini pada umumnya memproduksi koagulase sehingga dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan sifat imunitas koagulasenya, yaitu koagulase tipe I sampai VIII (Fardiaz, 1993).

Sel-sel *Staphylococcus aureus* adalah gram positif berbentuk bola yang umumnya tersusun berkelompok seperti buah anggur. Bakteri ini tidak bergerak, fakultatif anaerob dan dapat tumbuh pada produk-produk yang mengandung NaCl sampai 16 %. Secara ekologis *Staphylococcus aureus* erat sekali hubungannya dengan manusia dan hewan lainnya, terutama pada bagian kulit, hidung, dan tenggorokan. Dengan demikian makanan kebanyakan tercemar melalui pengelolaan oleh manusia. Secara keseluruhan, organisme ini tidak kuat bersaing dengan lainnya dan akibatnya bakteri ini tidak mempunyai peran yang berarti pada bahan-bahan pangan yang tidak masak. Akan tetapi, dalam bahan pangan yang telah dimasak, di mana organisme-organisme yang ada telah rusak oleh pemanasan atau pertumbuhannya terhambat oleh konsentrasi garam, sel-sel *Staphylococcus aureus* dapat terus berkembang mencapai

tingkat yang membahayakan. Keracunan karena bahan pangan yang tercemar *Staphylococcus aureus* kebanyakan berhubungan dengan produk bahan pangan yang telah dimasak terutama yang dikelola oleh manusia seperti daging dan ayam yang dimasak, abon, udang kupas yang dimasak, dan produk susu. Gejala dari keracunan bahan pangan yang tercemar *Staphylococcus aureus* adalah yang bersifat intoksikasi. Pertumbuhan organisme ini dalam bahan pangan menghasilkan racun enterotoksin, di mana apabila termakan dapat mengakibatkan serangan mendadak yaitu kekejangan pada perut dan muntah-muntah yang hebat. Diare juga terjadi. Penyembuhannya cukup cepat dan umumnya sehari. Untuk menghasilkan enterotoksin yang cukup dalam produk untuk bersifat meracuni dibutuhkan kira-kira 10^6 sel/g (Buckle dkk, 1985).

Ada tiga jenis media yang dapat digunakan untuk membedakan *S. Aureus* dari mikroba lainnya, yaitu :

a. Media agar garam manitol

Mempunyai kandungan garam cukup tinggi, sehingga mikroba lain terutama *P.aeruginosa*; *E.coli*; *Salmonella* akan dihambat pertumbuhannya. *S. aureus* cukup tahan terhadap garam tinggi, sehingga dapat tumbuh dengan warna kuning keemasan dan media pun berubah menjadi kuning. Dengan demikian media ini sudah sangat selektif dan mampu memilah *S. aureus* dari mikroba lain terutama ketiga mikroba tersebut. Namun demikian ada juga mikroba lain yang dapat tumbuh pada media tersebut seperti jenis *Staphylococcus* lain dan beberapa mikroba *halophili marine*.

b. Media agar Vogel Johnson

Media ini mengandung mannitol, tellurite dan lithium chloride yang berperan untuk mengisolasi bakteri yang bersifat koagulase positif, karena semua yang bersifat koagulase positif akan tumbuh pada media ini. *S. aureus* mempunyai koloni hitam sebagai akibat pengendapan hasil reduksi tellurite. Media di sekitar koloni akan berubah menjadi kuning akibat fermentasi mannitol. Adanya lithium chloride bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain termasuk *E. coli*. Namun demikian media ini kurang mampu memilah *S. aureus* karena semua koagulase positif dapat tumbuh termasuk *S. epidermidis* dan *Proteus*.

c. Media Agar Baird Parker

Media ini juga mengandung lithium untuk menghambat pertumbuhan mikroba lain dan mikroba yang bersifat koagulase positif akan tumbuh. *S. aureus* mempunyai koloni spesifik berwarna hitam akibat endapan hasil telurite dan media

disekitarnya menjadi jernih. Jenis mikroba yang dapat tumbuh antara lain *Bacillus*, *Proteus* dan *yeast* (Afrianto, 2008).

BPA yang diberi Egg Yolk (EY) Tellurite Enrichment (ditambahkan setelah sterilisasi) dapat digunakan untuk mendeteksi dan menghitung jumlah *Staphylococcus* yang bersifat koagulase positif di dalam contoh. Médium ini mengandung lithium dan kalium tellurit untuk menghambat pertumbuhan mikroba lainnya selain *Staphylococcus*. Selain itu médium ini juga mengandung piruvat dan glisin untuk merangsang pertumbuhan *Staphylococcus*. Koloni *S. aureus* pada médium ini berwarna hitam mengkilat, konveks dan dikelilingi oleh areal bening jika médium mengandung *Egg Yolk Tellurite*. Timbulnya areal bening di sekelilingi koloni menunjukkan lesitinase positif. Koloni *S. epidermidis* juga berwarna hitam, tetapi dikelilingi oleh areal bening (Fardiaz, 1993).

Staphylococcus aureus mempunyai dua macam koagulase, yaitu :

a. Koagulase terikat

Koagulasi ini disebut juga faktor penjendalan yang terikat pada dinding sel bakteri. Bila suspensi bakteri dicampur dengan plasma maka enzim tersebut dapat menggumpalkan fibrin yang ada di dalam plasma membentuk deposit pada permukaan selnya. Kemampuan ini diduga untuk menghindarkan sel dari serangan sel fagosit hospes. Koagulase ini dapat dideteksi dengan slide test. Tes ini dilakukan untuk uji cepat atau screening.

b. Koagulase bebas

adalah enzim ekstraseluler yang juga dapat menjendalkan fibrin. (Wijayanti, 2009).

Uji MPN *Escherichia coli*

E. coli dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : *Procaryota*

Kelas : *Schizomycetes*

Bangsa : *Eubacteriales*

Suku : *Enterobacteriaceae*

Marga : *Escherichia*

Jenis : *Escherichia coli*

Morfologi dan identifikasi *E. coli* adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk pendek (kokobasil), berukuran 0,4-0,7 μm , bersifat anaerobik

fakultatif dan mempunyai flagella peritrikal. Bakteri ini banyak ditemukan di dalam usus manusia sebagai flora normal (Wijayanti, 2009).

Berbagai cara pengujian *E. coli* telah dikembangkan, tetapi analisis konvensional yang masih banyak dipraktikkan adalah dengan 4 tahap analisis yang memerlukan waktu 5-7 hari. Empat tahap analisis tersebut adalah uji pendugaan dengan metode MPN (*most probable number*), uji penguat pada medium selektif, uji pelengkap dengan medium lactose broth, serta uji identifikasi dengan melakukan reaksi IMViC (indol, methyl red, Voges-Proskauer, dan citrate). Jadi untuk dapat menyimpulkan *E. coli* berada dalam air atau makanan diperlukan seluruh tahapan pengujian di atas. Apabila dikehendaki untuk mengetahui serotipe dari *E. coli* yang diperoleh untuk memastikan apakah *E.coli* tersebut patogen atau bukan maka dapat dilakukan uji serologi. Meskipun demikian, beberapa serotipe patogen tertentu seperti O157:H7 yang ganas tidak dapat diuji langsung dengan pengujian 4 tahap ini dan memerlukan pendekatan analisis khusus sejak awal (Dwiari et al, 2008).

Ada tiga media yang dapat digunakan untuk membedakan *E. Coli* dan mikroba lain, yaitu :

a. Media Eosin Methylene Blue

Media ini mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasi laktosa seperti *E. coli* dengan mikroba yang tidak memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*; *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam, sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya eosin dan methylene blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian jika media ini digunakan pada tahap awal, karena mikroba lain juga tumbuh terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella sp* dapat menimbulkan keraguan. Bagaimanapun media *Eosin Methylene Blue* sangat baik untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E. coli*.

b. Media MacConkey Agar

Media ini mempunyai keistimewaan memilah bakteri enterik gram negatif yang memfermentasi laktosa, karena media ini mengandung laktosa, crystal violet dan neutral red bile salt. Kemampuan *E. coli* memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi neutral red untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan mengendapkan bile empedu. Koloni lain (*S.aureus*; *P. aeruginosa* dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu

memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Enterobacter*; *Proteus*; *Salmonella*; *Shigella*, *Aerobacter*; *Enterococcus*.

c. Media MacConkey Broth

Bermanfaat sekali dalam memilah *E. coli* dari mikroba lain terutama *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Adanya Oxygall dalam media berperan dalam menghambat bakteri gram positif lain seperti *S. aureus*. Kandungan laktosa sangat penting untuk memilah *E. coli* dari mikroba lain yang tidak memfermentasi laktosa, terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Kondisi asam akan menyebabkan bromo cresol purple (berwarna ungu) berubah menjadi kuning dan adanya gas yang dapat diamati pada tabung Durham. Sedangkan *Salmonella* dan *P. aeruginosa* tidak dapat mengubah warna media karena tidak memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang mampu memfermentasi laktosa dan mempunyai ekspresi pada media seperti *E. coli* adalah *Enterobacter aerogenes*. Adapun cara untuk memilah *E. aerogenes* antara lain dengan reaksi indol. Dimana *E. coli* mempunyai reaksi positif, sedang *E. aerogenes* bereaksi negatif. Dengan sifat tersebut media ini sangat baik untuk memilah *E. coli* dari mikroba lain pada tahap awal terutama *P. aeruginosa*; *S. aureus* dan *Salmonella* (Afrianto, 2008).

Uji yang dilakukan untuk mengetahui *E. coli* yang terdapat di dalam contoh adalah uji IMViC, yang merupakan singkatan dari uji Indol, Methyl Red, Voges-Proskauer, dan Sitrat. Dari suspensi bakteri yang dibuat pada uji konfirmasi, masing-masing diinokulasikan menggunakan jarum ose ke dalam tiga tabung yang masing-masing berisi medium yang berbeda, yaitu :

- a. Tryptone Broth untuk Uji Indol
- b. MR-VP Broth (*Proteose Broth*) untuk uji merah metil dan Voges Proskauer.
- c. Koser Citrate Medium untuk uji penggunaan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

Reaksi–reaksi yang terjadi pada uji IMViC ialah:

a. Uji Indol

Bakteri yang tergolong dalam grup fekal dapat memecah asam amino triptofan, dan menghasilkan suatu senyawa berbau busuk yang disebut indol. Bakteri yang telah ditumbuhkan di dalam medium yang mengandung triptofan, kemudian diberi 3-5 tetes pereaksi Kovacs yang mengandung amil alkohol, atau diberi kristal asam oksalat. Adanya indol akan menyebabkan amil alkohol berubah warnanya menjadi merah tua, atau warna kristal asam oksalat menjadi merah muda. Uji yang

menggunakan penunjuk amil alkohol disebut metode Kovacs, sedangkan yang menggunakan penunjuk asam oksalat disebut *metode Gnezda*.

b. Uji Merah Metil (Methyl Red)

Selama fermentasi *E. coli* (fekal) akan menghasilkan asam lebih banyak dari pada *E. aerogenes* (non fekal). Asam yang dihasilkan *E. coli* dapat menurunkan pH medium yang mengandung 0,5 % glukosa sehingga mencapai pH 5, yang menyebabkan indikator merah metil yang diteteskan ke dalam medium tersebut menjadi berwarna merah. Asam yang dihasilkan oleh *E. aerogenes* hanya dapat menurunkan pH sampai sekitar pH 6 atau lebih, sehingga merah metil akan berwarna kuning. Kultur di dalam médium MR-VP yang telah berumur 5-7 hari diberi tetes larutan merah metil. Warna merah menunjukkan hasil uji positif, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil uji negatif.

c. Uji Voges Proskauer

Uji Voges-Proskauer didasarkan atas pembentukan asetil metil karbinol (asetoin) oleh *E. aerogenes*, yaitu suatu hasil samping dari metabolisme karbohidrat. *E. coli* tidak membentuk asetil metil karbinol. Ke dalam 1 ml kultur dari médium MR-VP, ditambahkan 0,6 ml larutan 0,5% alfa-naftol di dalam alkohol absolut, dan 0,2 ml larutan KOH 40%. Setelah dikocok, amati terbentuknya warna merah muda sampai merah yang menunjukkan terbentuknya asetil metil karbinol. Asetil metil karbinol dengan adanya KOH dan udara akan teroksidasi menjadi diasetil kemudian diasetil dengan adanya alfa-naftol dan asam amino yang terdapat di dalam medium akan membentuk warna merah.

d. Uji Sitrat

Uji ini didasarkan atas penggunaan sitrat di dalam medium oleh *E. aerogenes*, dimana sitrat merupakan satu-satunya sumber karbon di dalam médium tersebut. *E. coli* tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Adanya pertumbuhan yang menunjukkan penggunaan sitrat sebagai sumber karbon dapat dilihat dari timbulnya kekeruhan di dalam *Koser Citrate Medium* setelah inkubasi 3-4 hari (Fardiaz, 1993).

Uji Angka Kapang

Kapang merupakan mikroba dalam kelompok Fungi yang berbentuk filamen, yaitu strukturnya terdiri dari benang-benang halus yang disebut hifa. Kumpulan dari banyak hifa membentuk kumpulan massa yang disebut miselium dan lebih mudah dilihat oleh mata tanpa menggunakan mikroskop. Contoh miselium adalah serat putih seperti kapas yang tumbuh pada tempe. Kapang juga mempunyai struktur yang disebut spora yang

pada umumnya terletak pada ujung-ujung dari hifa, dan merupakan struktur yang sangat ringan dan mudah menyebar kemana-mana. Spora merupakan alat perkembangbiakan kapang, karena pada kondisi substrat dan lingkungan yang baik maka spora dapat bergerminasi dan tumbuh menjadi struktur kapang yang lengkap. Dari satu struktur kapang dapat dihasilkan beratus-ratus spora yang mudah menyebar dan mencemari pangan, kemudian tumbuh menjadi bentuk kapang yang lengkap. Jika dilihat di bawah mikroskop, berbagai jenis kapang mempunyai struktur hifa dan spora yang berbeda-beda, dan karakteristik struktur tersebut digunakan untuk mengidentifikasi kapang. Spora kapang pada umumnya mempunyai warna tertentu tergantung dari jenis kapangnya. Oleh karena itu pertumbuhan kapang pada pangan mudah dilihat dengan mata, yaitu ditandai dengan perubahan warna yang menunjukkan adanya spora kapang dan sering disebut sebagai bulukan. Selain dapat menyebabkan kerusakan pangan, beberapa kapang tertentu juga bermanfaat karena digunakan dalam proses fermentasi pangan. Beberapa kapang jika tumbuh pada pangan dapat memproduksi racun yang berbahaya yang disebut toksin (racun) kapang atau mikotoksin. Spesies kapang yang memproduksi mikotoksin terutama adalah dari jenis *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium*. Beberapa contoh mikotoksin yang sering ditemukan pada pangan misalnya aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus* dan okratoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus ochraceus* (Anonim^c, 2007).

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi. Kapang merupakan fungi multiseluler yang mempunyai filamen, dan pertumbuhannya pada makanan mudah dilihat karena penampakkannya yang berserabut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula akan berwarna putih tetapi jika spora telah timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Sifat-sifat morfologi kapang, baik penampakan makroskopik maupun mikroskopik, digunakan dalam identifikasi dan klasifikasi kapang. Kapang terdiri dari suatu thallus (jamak = *thalli*) yang tersusun dari filamen yang bercabang yang disebut hifa (tunggal = *hypha*, jamak = *hyphae*). Kumpulan dari hifa disebut miselium (tunggal = *mycelium*, jamak = *mycelia*). Hifa tumbuh dari spora yang melakukan germinasi membentuk suatu tuba germ, dimana tuba ini akan tumbuh terus membentuk filamen yang panjang dan bercabang yang disebut hifa, kemudian seterusnya akan membentuk suatu massa hifa yang disebut miselium. Pembentukan miselium merupakan sifat yang membedakan grup-grup di dalam fungi (Fardiaz, 1992).

Sejak lama manusia telah memperoleh keuntungan dari penggunaan kapang. Kapang tidak hanya mensintesa antibiotika, tetapi juga menghasilkan beberapa bahan

pangan. Bahan pangan yang difermentasi seperti keju, kecap, miso, tempe. Kapang dapat juga menyebabkan pembusukan bahan pangan, tetapi pembusukkan ini biasanya dianggap tidak baik dari segi estetis dan bukannya berbahaya untuk kesehatan konsumen. Dari penelitian terhadap produksi zat-zat racun yang dihasilkan berbagai jenis kapang, sekarang kapang yang tumbuh pada bahan pangan dapat diduga memberi ancaman bahaya bagi kesehatan masyarakat. Pada kenyataannya, sekarang telah ditemukan bahwa beberapa kapang yang mencemari dan tumbuh pada produk bahan pangan menghasilkan zat-zat racun yang dikenal sebagai *mycotoxin*. *Mycotoxin* didefinisikan sebagai zat yang diproduksi oleh kapang dalam bahan pangan atau makanan ternak yang dapat menyebabkan penyakit atau kematian bila termakan oleh manusia atau hewan. Tidak seperti racun bakteri, dimana umumnya sifatnya seperti protein. *Mycotoxin* umumnya adalah zat kimia heterosiklik yang berberat molekul rendah. Walaupun banyak keterangan yang telah diperoleh tentang *mycotoxin*, pengaruh dari zat-zat tersebut pada kesehatan manusia belum tercatat baik. Penyakit akut yang disebabkan *mycotoxin* dapat berbeda-beda sifatnya, beberapa menyerang sistem syaraf pusat, beberapa mempengaruhi fungsi hati dan ginjal. Beberapa di antaranya bersifat karsinogenik menyebabkan kanker pada hati, ginjal, dan perut apabila di makan dalam jumlah kecil untuk jangka waktu cukup lama (Buckle dkk, 1985).

Jumlah kapang di dalam contoh makanan dapat dihitung dengan metode hitungan cawan menggunakan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). PDA adalah suatu medium yang mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup, yaitu terdiri dari 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa, sehingga baik untuk pertumbuhan kapang tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri (Fardiaz, 1993).

Metode yang digunakan untuk menentukan jumlah mikroba dalam dalam bahan pangan antara lain dengan metode permukaan. Agar steril terlebih dahulu dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan membeku. Setelah membeku dengan sempurna, kemudian sebanyak 0,1 ml contoh yang telah diencerkan di pipet pada permukaan agar tersebut. Sebuah batang gelas melengkung (*hockey stick*) dicelupkan kedalam alkohol 95% dan dipijarkan sehingga alkohol habis terbakar. Setelah dingin batang gelas melengkung tersebut digunakan untuk meratakan contoh diatas medium agar dengan cara memutar cawan petri diatas meja. Selanjutnya inkubasi dan perhitungan koloni dilakukan seperti pada metode penuangan, Tetapi harus diingat bahwa jumlah contoh yang ditumbuhkan adalah 0,1 ml, jadi harus dimasukkan dalam perhitungan "Total Count" (Thayib dan Amar, 1989).

Cara perhitungan koloni dalam Uji Angka Kapang ialah

1. Hitung cawan yang mengandung jumlah 10 koloni - 150 koloni dan catat pengenceran yang digunakan
2. Hitung cawan yang mengandung jumlah koloni lebih dari 150 koloni dan catat pengenceran yang digunakan.
 Bila jumlah koloni per cawan lebih dari 150 pada seluruh pengenceran maka laporkan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 150 laporkan sebagai perkiraan kapang dan khamir.
3. Hitung cawan yang mengandung jumlah koloni kurang dari 10 koloni atau cawan tanpa koloni dan catat pengenceran yang digunakan.
 Bila pada kedua pengenceran yang digunakan diperoleh koloni kurang dari 10, catat koloni yang ada, nyatakan perhitungan sebagai kurang dari 10 dan dikalikan dengan $1/d$, dimana d adalah faktor pengenceran pertama yang digunakan dan dilaporkan sebagai perkiraan ALT kapang dan khamir (SNI 07-2332-2009).

Identifikasi Bakteri

Metabolisme merupakan reaksi-reaksi kimia yang terjadi pada makhluk hidup. Proses metabolisme dibedakan menjadi dua jenis yaitu anabolisme dan katabolisme. Anabolisme (biosintesis) yaitu reaksi biokimia yang merakit molekul-molekul sederhana menjadi molekul-molekul yang lebih kompleks. Misalnya pembentukan protein dari asam amino. Secara umum proses anabolik membutuhkan energi. Sedangkan katabolisme yaitu reaksi biokimia yang memecah atau menguraikan molekul-molekul kompleks menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. Proses katabolik melepaskan energi yang dibutuhkan oleh sel. Aktivitas metabolisme tidak terlepas dari adanya enzim. Berdasarkan tempat bekerjanya, bakteri memiliki juga jenis enzim yaitu endoenzim dan eksoenzim. Endoenzim yaitu enzim yang berkerja dalam sel. Sistem endoenzim selain bersifat anabolik dapat juga bersifat katabolik, sedangkan eksoenzim yaitu enzim yang disekresikan ke luar sel dan berdifusi ke dalam media. Sebagian besar eksoenzim bersifat hidrolitik, yang berarti bahwa eksoenzim menguraikan molekul kompleks menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. Molekul-molekul yang lebih kecil ini kemudian dapat memasuki sel dan digunakan untuk kepentingan sel. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi (Ramadhany dan Amirudin, 2008).

Bakteri memiliki berbagai aktivitas biokimia (pertumbuhan dan perbanyakan) dengan menggunakan raw material (nutrisi) yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Transformasi biokimia dapat timbul didalam dan diluar dari bakteri yang diatur oleh katalis biologis yang dikenal sebagai enzim. Setiap bakteri memiliki kemampuan dalam menggunakan enzim yang dimilikinya untuk degradasi karbohidrat, lemak, protein, dan asam amino. Metabolisme atau penggunaan dari molekul organik ini biasanya menghasilkan produk yang dapat digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi bakteri. Pengamatan aktivitas biokimia atau metabolisme mikroorganisme yang diketahui dari kemampuan mikroorganisme untuk menggunakan dan menguraikan molekul yang kompleks seperti karbohidrat, lemak, protein dan asam nukleat. Selain itu dilakukan pula pengamatan pada molekul-molekul sederhana seperti asam amino dan monosakarida. Dan hasil dari berbagai uji ini digunakan untuk perincian dan identifikasi mikroorganisme

1. Fermentasi Karbohidrat

Kemampuan memfermentasikan berbagai karbohidrat dan produk fermentasi yang dihasilkan merupakan ciri yang sangat berguna dalam identifikasi mikroorganisme. Glukosa merupakan senyawa yang paling sering digunakan oleh mikroorganisme dalam proses fermentasi itu. Selain itu terdapat pula media sukrosa dan laktosa. Fermentasi merupakan proses oksidasi biologi dalam keadaan anaerob dimana yang bertindak sebagai substrat adalah karbohidrat. Dimana hasil dari fermentase ini berbeda-beda bergantung pada jenis bakterinya misalnya saja asam laktat, asam cuka, CO₂ dan asam tertentu lainnya. Uji fermentasi karbohidrat, yang akan dilihat adalah pembentukan asam yang akan terlihat dari perubahan warna medium menjadi kuning dan pembentukan gas yang terlihat dari adanya gas dalam tabung durham.

2. Uji MRVP

Uji metil red digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Dimana beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah.

Tes IMViC ini digunakan untuk membedakan beberapa bakteri golongan *Enterobacteriaceae*, berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasi glukosa dan laktosa, penguraian triptosan yang menghasilkan indol serta adanya enzim sitrat permease yang mampu menguraikan natrium sitrat dari medium khusus yang digunakan.

Pada percobaan ini, penambahan indikator metil red pada akhir pengamatan dapat menunjukkan perubahan pH menjadi asam. Metil red akan menjadi merah pada suasana asam (pada lingkungan dengan pH 4,4) dan akan berwarna kuning pada suasana basa (pada suasana lebih dari atau sama dengan 6,2). Uji ini berguna dalam identifikasi kelompok bakteri yang menempati saluran pencernaan, seperti pada golongan *coliform* dan *enterobacteriaceae*.

3. Uji Voges-Proskauer

Uji Voges-Proskauer merupakan salah satu pengujian dari kelompok tes IMViC. Uji ini digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melakukan fermentase dengan hasil akhir 2,3 butanadiol. Pada uji VP ini dilakukan penambahan 40% KOH dan 5% larutan alfa naftol pada saat pengamatan. Hal ini dapat menentukan adanya asetoin (asetil metal karbinol), suatu senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol. Dengan adanya penambahan KOH 40 %, keberadaan setoin ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi merah, dan perubahan ini makin jelas dengan penambahan alfa naftol beberapa tetes. Uji VP ini sebenarnya merupakan uji tidak langsung untuk mengetahui adanya 2,3 butanadiol. Karena uji ini lebih dulu menentukan asetoin, dan seperti yang kita ketahui bahwa asetoin adalah senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol, sehingga dapat dipastikan bahwa dengan adanya asetoin dalam media berarti menunjukkan adanya produk 2,3 butanadiol sebagai hasil fermentasi.

4. Uji Produksi Indol

Mikroorganisme menggunakan asam amino sebagai pemuka protein, komponen sel dan kadang kala sebagai sumber energi. Asam amino ini dimodifikasikan dengan berbagai cara sewaktu metabolisme. Dalam percobaan diperlihatkan berbagai cara mikroorganisme memodifikasikan asam amino. Dimana modifikasi asam amino dapat digunakan untuk pengidentifikasian untuk suatu jenis bakteri.

Untuk uji ini, digunakan medium cair yang kaya akan triptofan yaitu dalam bentuk tripton 1% sebagai sumber karbon. Indol yang terbentuk akan berwarna merah dengan penambahan reagen Kovach atau *Erlich* yang mengandung *p-dimetilbenzaldehyd*. Dikatakan positif apabila senyawa ini menghasilkan senyawa para amino benzaldehyd yang tidak larut dalam air dan membentuk warna merah pada permukaan medium.

5. Penggunaan sitrat

Uji sitrat merupakan salah satu pengujian dari kelompok tes IMViC. Pengujian ini digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Untuk uji ini digunakan medium sitrat koser (SCA) yang merupakan medium sintetik dengan NA sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, NH_4^+ sebagai sumber N dan indikator BTB (*Brom Timol Blue*) yang merupakan indikator pH.

Bila mikroba mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

6. Uji H_2S

Pengujian ini menggunakan medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), uji ini digunakan untuk membedakan antara anggota kelompok *Enterobacteriaceae* dan membedakan kelompok *Enterobacteriaceae* dengan kelompok lainnya.

H₂S diproduksi oleh beberapa jenis mikroorganisme melalui pemecahan asam amino yang mengandung unsur belerang (S) seperti lisin dan metionin. H₂S dapat juga diproduksi melalui reduksi senyawa-senyawa belerang anorganik, misalnya : tiosulfat, sulfit atau sulfat.

Adanya H₂S dapat diamati dengan menambahkan garam-garam logam berat ke dalam medium. Dikatakan positif apabila H₂S bereaksi dengan senyawa-senyawa ini ditandai dengan terbentuknya logam sulfit yang berwarna hitam. Dan dikatakan negatif apabila tidak terbentuk logam sulfit yang berwarna hitam karena bakteri yang berada dalam medium tersebut tidak dapat menghidrolisis logam-logam berat yang terkandung dalam medium (Anonim^d, 2009).

Jenis Media Identifikasi Uji Biokimia

1. *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*

Merupakan media padat untuk membedakan sifat-sifat kuman secara biokimia.

2. *Sulfide Indol Motility (SIM Medium)*

Merupakan media yang berfungsi untuk mengetahui terbentuknya sulfide, indol dan mengetahui pergerakan kuman.

3. *Metil Red and Voges Proskauer (MR-VP Medium)*

Merupakan media yang digunakan untuk mengetahui terbentuknya asam setelah ditetesi dengan reagen MR, sedangkan test VP digunakan untuk mengetahui terbentuknya asetil metil karbonil.

4. *Simmon's Citrat Agar*

Merupakan media yang berfungsi untuk mengetahui kemampuan kuman dalam memanfaatkan natrium citrat sebagai sumber carbon untuk keperluan hidupnya (Setyo. 2008).

BAB III

PELAKSANAAN MAGANG

A. Pelaksana

Nama : Ratna Nugraheni
NIM : H 3107024
Program Studi : Diploma III Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Pertanian

B. Tempat Pelaksanaan Magang

Pelaksanaan magang bertempat di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta. Jalan Tompeyan Tegalrejo Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, kode pos 55244, Telephone (0274) 561038 dan fax. (0274) 552250, 519052. Email: bpom_yogyakarta@pom.go.id.

C. Waktu Magang

Magang dilaksanakan mulai tanggal 22 Maret 2010 sampai 2 April 2010. Kegiatan magang di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta dilaksanakan selama 2 minggu dari hari Senin sampai dengan Jumat, dimulai pada pukul 07.30 sampai pukul 15.30 WIB.

D. Cara Pelaksanaan Magang

1. Obervasi

Observasi dilakukan dengan mengadakan pengamatan langsung atau melihat proses serta kegiatan yang dilaksanakan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan, serta berpartisipasi aktif pada semua kegiatan yang dilakukan di Bidang Pengujian Mikrobiologi.

2. Wawancara

Wawancara dilakukan dengan menanyakan secara langsung kepada pihak-pihak yang bersangkutan dan memiliki kapasitas untuk memberikan jawaban mengenai proses ataupun kegiatan yang berlangsung di Balai

Besar Pengawas Obat dan Makanan dengan tujuan mendapatkan dan menggali informasi atau data.

Wawancara atau tanya jawab dilakukan dengan pegawai yang sesuai dengan bidang-bidang yang dimiliki. walaupun analisis mikrobiologis telah dilakukan secara langsung, tetapi masih diperlukan wawancara guna menambah keterangan–keterangan yang lebih akurat dan informasi mengenai hasil analisis mikrobiologis. Pelaksanaan wawancara mengenai analisis mikrobiologis dilakukan kepada Kepala Bidang Pengujian Mikrobiologi, pembimbing magang serta staff di Bagian Mikrobiologi, maupun kepada pelaksana. Selain wawancara mengenai analisis mikrobiologi, untuk mengetahui tentang Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta juga dilakukan wawancara kepada Kepala Sub Bagian Tata Usaha.

3. Praktek Langsung

Melaksanakan praktek langsung di lapangan yaitu dengan ikut bekerja langsung dalam kegiatan yang berlangsung didalam Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan, dimana sesuai dengan ketentuan dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan terutama di Laboratorium Pengujian Mikrobiologi.

4. Mencatat

Melakukan pencatatan terhadap data-data yang didapat dari ketiga metode sebelumnya (observasi, wawancara, dan praktek langsung) yang dapat di pertanggung jawabkan dan mendukung kegiatan praktek magang tersebut. Data tersebut berupa data sekunder, jenis data sekunder berupa data mengenai kondisi umum Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan, sejarah berdirinya, stuktur organisasi dan lainnya yang berkaitan dengan tujuan praktek magang.

Pelaksanaan magang tidak hanya dilaksanakan secara langsung dan wawancara. Hasil dari pelaksanaan secara langsung dan wawancara akan lebih akurat dan lengkap jika dilanjutkan dengan pencatatan. Tidak semua data yang dibutuhkan dapat dilakukan secara langsung maupun wawancara,

seperti struktur organisasi, sejarah singkat berdirinya, dan kondisi umum Balai, dapat diketahui dengan mencatat langsung di perpustakaan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta.

5. Studi Pustaka

Mencari pustaka atau literatur yang diperlukan guna melengkapi data.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kajian Umum Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta

1. Keadaan Umum Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta

a. Lokasi Instansi

Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Yogyakarta terletak di jalan Tompeyan Tegalrejo Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, kode pos 55244, Telephone (0274) 561038 dan fax. (0274) 552250, 519052. Email: bpom_yogyakarta@pom.go.id.

Balai Besar POM Yogyakarta ini terletak dikawasan perkantoran dan apabila dilihat dari segi perhubungan sangat strategis karena berlokasi di dekat jalan raya yang menghubungkan kota Yogyakarta dengan Kabupaten Bantul. Dengan batas wilayah sebagai berikut

Disebelah Timur dibatasi oleh	: Kecamatan Depok DIY
Disebelah Selatan dibatasi oleh	: Godean, Kabupaten Bantul
Disebelah Barat dibatasi oleh	: Dinas Pemadam Kebakaran Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta
Disebelah Utara dibatasi oleh	: Dinas Kesehatan Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta

b. Data umum wilayah

Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta terletak di Pulau Jawa terbentang antara 110° Bujur Timur sampai 150° Bujur Timur dan 733° Lintang Selatan sampai 812° Lintang Selatan, dengan batas bagian Selatan Samudra Hindia dan bagian lainnya berbatasan dengan Provinsi Jawa Tengah, yaitu bagian Tenggara dengan Kabupaten Wonogiri, bagian Timur Laut dengan Kabupaten Klaten, bagian Barat Laut dengan Kabupaten Magelang dan Bagian Barat dengan Kabupaten Purworejo. Luas wilayah pengawasan secara keseluruhan adalah 3.185,80 km² atau 0,17 persen dari luas Indonesia (1.860.359,67 km²)

Cakupan wilayah kerja pengawasan Balai Besar POM di Yogyakarta meliputi seluruh wilayah administratif Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta yang terdiri atas 1 kota dan 4 kabupaten, yaitu:

1. Kota Yogyakarta dengan luas 32,50 km²
2. Kabupaten Kulon Progo dengan luas 586,27 km²
3. Kabupaten Bantul dengan luas 506,85 km²

4. Kabupaten Gunung Kidul dengan luas 1.485,36 km²
5. Kabupaten Sleman dengan luas 574,82 km²

c. Sejarah Singkat Berdirinya

Sejarah awal berdirinya Badan Pengawas Obat dan Makanan bernama Direktorat Daerah Farmasi yang strukturnya dibawah oleh Dinas Kesehatan. Selanjutnya mengalami perkembangan dan berubah namanya menjadi Direktorat Daerah Pengawas Obat dan Makanan. Pada tahun 1988, mengalami perubahan lagi menjadi Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan yang merupakan Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan yang strukturnya berada dibawah Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) ditetapkan berdasarkan keputusan Presiden No. 166 tahun 2000 tentang kedudukan, tugas, fungsi, kewenangan, susunan organisasi, dan tata kerja lembaga pemerintah non departemen. Serta Nomor 103 Tahun 2001 bahwa BPOM bertugas di bidang pengawasan obat dan makanan, dengan kewenangannya antara lain pemberian izin dan pengawasan peredaran obat serta pengawasan industri farmasi. Dan telah diubah dengan keputusan Presiden No. 173 tahun 2000. Pada tanggal 26 Februari 2000 pembentukan badan POM ini ditindak lanjuti dengan Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 02001/SK/KBPOM 1 tentang organisasi dan tata kerja Badan Pengawas Obat dan Makanan. Setelah mendapat persetujuan pada tanggal 1 Februari 2001 dari Menteri Negara Pendayagunaan Aparatur Negara No. 34/M. PAN/2/2001.

Tindak lanjut terbentuknya Badan Pengawas Obat dan Makanan (Badan POM), maka ditetapkan Unit Pelaksana Teknis di lingkungan Badan POM melalui keputusan kepala Badan POM No. 05018/SK/KBPOM tahun 2001, tentang organisasi dan Tata Kerja Unit Pelaksana Teknis di lingkungan Badan POM setelah mendapat persetujuan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara RI 119/M. PAN/5/2001. Keputusan kepala Badan POM memuat penyempurnaan organisasi dan tata Kerja Balai POM yang terdiri dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan atau Balai Besar POM (BBPOM) dan Balai Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yang mempunyai tugas hampir sama pada masing-masing seksi.

Badan Pengawas Obat dan Makanan atau disingkat Badan POM adalah sebuah lembaga di Indonesia yang bertugas mengawasi peredaran obat-obatan dan makanan di Indonesia. Fungsi dan tugas badan ini menyerupai fungsi dan tugas Food

and Drug Administration (FDA) di Amerika Serikat.

Balai Besar Pengawas Obat Makanan (BBPOM) Yogyakarta merupakan salah satu Unit Pelaksana Teknis (UPT) Badan POM yang mempunyai peranan penting sebagai perpanjangan tangan dari Badan POM dalam melaksanakan kebijakan di bidang pengawasan produk terapeutic, narkotika, psikotropika dan zat adiktif lain, obat tradisional, kosmetika, produk komplemen, keamanan pangan dan bahan berbahaya.

Wilayah pengawasan Balai Besar POM Yogyakarta meliputi daerah kota Yogyakarta, Kabupaten Sleman, Kabupaten Kulon Progo, Kabupaten Gunung Kidul, Kabupaten Bantul.

Unit Pelaksana Teknis di lingkungan Badan Pengawas Obat dan Makanan adalah unit pelaksana teknis Badan Pengawas Obat dan Makanan di bidang pengawasan obat dan makanan, yang berada di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala Badan, dalam pelaksanaan tugas secara teknis dibina oleh para Deputi dan secara administrasi dibina oleh Sekretaris Utama Badan. Unit Pelaksana Teknis di lingkungan Badan Pengawas Obat dan Makanan dipimpin oleh seorang Kepala. Yang menjabat sebagai Kepala Balai Besar POM Yogyakarta pada saat ini adalah Drs. Endang Kusnandi, M. Kes., Apt.

d. Visi dan Misi

Visi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta ialah menjadi institusi terpercaya yang diakui secara internasional di bidang pengawasan obat dan makanan untuk melindungi masyarakat.

Misi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan ialah Yogyakarta ialah

1. Menciptakan penegakan hukum pada sarana produksi dan distribusi obat dan makanan.
2. Menjadikan makanan tradisional khas daerah aman dan bebas dari bahan berbahaya, layak dikonsumsi masyarakat dan wisatawan.
3. Melindungi masyarakat dari beredarnya produk obat dan makanan yang tidak memenuhi syarat mutu dan keamanan melalui pengujian secara kimia, fisika dan mikrobiologi

e. Tugas Pokok dan Fungsi

Unit pelaksana teknis Badan Pengawas Obat dan Makanan mempunyai tugas melaksanakan kebijakan di bidang pengawasan produk terapeutic, narkotika, psikotropika dan zat adiktif lain, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen,

keamanan pangan dan bahan berbahaya. Dalam melaksanakan tugas sebagai tersebut diatas, Unit Pelaksana Teknis di Lingkungan Badan Pengawas Obat dan Makanan menyelenggarakan tugas pokok dan fungsi :

Tugas Pokok

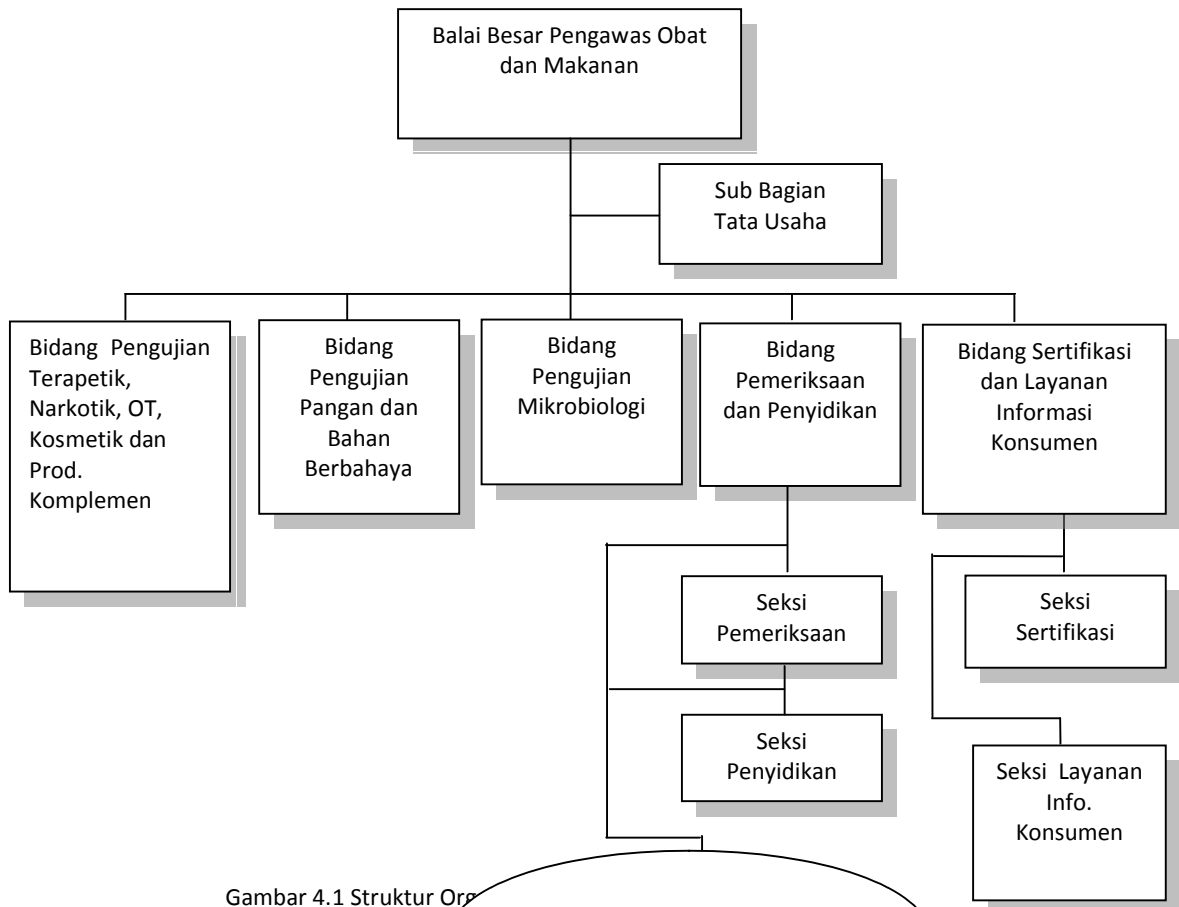
Melaksanakan kebijakan dibidang pengawasan produk terapeutic, narkotika, psikotropika, dan zat adiktif lain, obat tradisional, kosmetika, produk komplemen, keamanan pangan dan bahan berbahaya.

Fungsi

- 1) Pengaturan, regulasi, dan standardisasi;
- 2) Lisensi dan sertifikasi industri di bidang farmasi berdasarkan Cara-cara Produksi yang Baik
- 3) Evaluasi produk sebelum diizinkan beredar
- 4) *Post marketing vigilance* (pengawasan pasca pemasaran) termasuk sampling dan pengujian laboratorium, pemeriksaan sarana produksi dan distribusi, penyidikan dan penegakan hukum
- 5) Preaudit dan pasca audit iklan dan promosi produk
- 6) Riset terhadap pelaksanaan kebijakan pengawasan obat dan makanan
- 7) Komunikasi, informasi dan edukasi publik termasuk peringatan publik.

2. Manajemen Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta

a. Struktur Organisasi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta



Gambar 4.1 Struktur Organisasi

1) Kepala Balai Besar POM

Kepala Balai Besar POM mempunyai tugas memimpin Balai Besar POM

yaitu

- a) Memimpin rencana, pelaksanaan dan pengawasan kegiatan pengujian setiap bidang di Balai Besar POM sesuai dengan keputusan perundang-undangan.
- b) Melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh pemimpin Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- c) Membina, melaksanakan dan menjalin kerja dengan instansi dan organisasi lain

2) Bagian Tata Usaha

Bagian tata usaha mempunyai tugas yaitu

- a) Mengurusi dan melakukan urusan tata usaha, keuangan, kepegawaian, perlengkapan dan rumah tangga Balai Besar POM.
 - b) Memberikan pelayanan teknis dan administrasi di lingkungan Balai besar POM.
- 3) Bidang Pengujian terapetik, narkotika, obat tradisional, kosmetika dan produk komplemen (teranokoko).

Bidang Pengujian Terapetik, Narkotika, Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program serta evaluasi dan penyusunan laporan pelaksanaan pemeriksaan secara laboratorium, pengujian dan penilaian produk terapetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik dan produk komplemen.

4) Bidang Pengujian Pangan dan Bahan Berbahaya

Bidang Pengujian Pangan dan Bahan Berbahaya mempunyai tugas melaksanakan penyusunan rencana dan program serta evaluasi, dan penyusunan laporan pelaksanaan pemeriksaan secara laboratorium, pengujian, dan penilaian mutu untuk dibidang pangan, bahan berbahaya dan mikrobiologi.

5) Bidang Pengujian Mikrobiologi

Bidang Pengujian Mikrobiologi mempunyai tugas dalam melaksanakan penyusunan rencana dan program serta evaluasi, penyusunan laporan pelaksanaan secara laboratorium, pengujian, penilaian mutu secara mikrobiologi.

6) Bidang Pemeriksaan dan Penyidikan

Bidang Pemeriksaan dan Penyidikan mempunyai tugas yaitu

- a) Penyusunan rencana dan program pemeriksaan dan penyidikan
- b) Pemeriksaan setempat dan pengambilan contoh pada sarana pengelolaan terhadap produk terapetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik, pangan, produk komplemen dan bahan berbahaya.
- c) Produksi, distribusi dan peredaran narkotika, psikotropika dan prekursor serta produk-produk ilegal
- d) Melakukan penyidikan kasus pelanggaran hukum dibidang produk terapetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen, pangan dan bahan berbahaya.
- e) Mengawasi peredaran Obat, Makanan dan Minuman yang dilakukan dengan dua metode yaitu pengawasan pencegahan (*preventive control*), dan penindakan secara hukum (*law enforcement*).

- f) Evaluasi dan tindak lanjut
- g) Penyusunan laporan tentang pemeriksaan dan penyidikan pada produk produk terpetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen, pangan dan bahan berbahaya.

Bidang ini dalam melaksanakan tugasnya terdiri dari dua bagian yaitu

1. Seksi Pemeriksaan

- a) Bertanggung jawab dalam sistem pengaturan, pembinaan dan pengawasan yang efektif di bidang keamanan, mutu dan gizi pangan serta produk terpetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen, dan bahan berbahaya.
- b) Melakukan kegiatan inspeksi yaitu kegiatan pemeriksaan sarana pengolahan atau peredaran pangan dan sanitasi serta proses yang ditetapkan.

2. Seksi Penyidikan

- a) Melakukan penyidikan terhadap produksi, distribusi dan peredaran narkotika, psikotropika dan prekursor serta produk-produk ilegal
- b) Melaksanakan penarikan dan pemusnahan pangan, obat tradisional, dan kosmetik, jika terbukti membahayakan kesehatan dan jiwa manusia.

7) Bidang Sertifikasi dan Lembaga Informasi Konsumen

Bidang Sertifikasi dan Lembaga Informasi Konsumen mempunyai tugas yaitu

- a) Melakukan pendaftaran dan sertifikasi terhadap produk pangan, obat tradisional dan kosmetik sebelum produk tersebut diedarkan kekonsumen.
- b) Melakukan komunikasi, memberi informasi dan edukasi kepada masyarakat untuk meningkatkan kesadaran dan pengetahuan terhadap mutu, khasiat dan keamanan produk.
- c) Menerima dan menanggapi pelaporan serta pengaduan masyarakat apabila masyarakat menemukan produk pangan ilegal, kadaluarsa atau tidak memenuhi ketentuan-ketentuan dalam Standar Nasional Indonesia.
- d) Evaluasi dan penyusunan laporan pelaksanaan sertifikasi produk, sarana produksi dan distribusi tertentu serta layanan informasi konsumen.

Bidang ini dalam melaksanakan tugasnya terdiri dari dua bagian yaitu

1. Seksi Sertifikasi

Bertugas dalam pendaftaran dan melakukan sertifikasi terhadap produk terapeutic, narkotika, obat tradisional, kosmetik, produk komplemen, dan pangan olahan.

2. Seksi Layanan Info. Konsumen

- a) Bertugas dalam melakukan komunikasi, memberi informasi dan edukasi kepada masyarakat
- b) Melakukan bimbingan teknis terutama kepada industri kecil menengah yang berfokus pada peningkatan kualitas produk.
- c) Menginformasikan hasil pengujian dan atau hasil pemeriksaan pangan, obat tradisional, kosmetik.

b. Budaya Organisasi Balai Besar POM Yogyakarta

Untuk membangun organisasi yang efektif dan efisien, budaya organisasi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta dikembangkan dengan nilai-nilai dasar sebagai berikut:

1) Profesionalisme

Menegakkan profesionalisme dengan integritas, obyektivitas, ketekunan dan komitmen yang tinggi.

2) Kredibilitas

Memiliki kredibilitas yang diakui oleh masyarakat luas, nasional dan internasional.

3) Tanggap

Tanggap dan cepat dalam bertindak mengatasi masalah.

4) Teamwork

Mengutamakan kerjasama tim.

c. Ketenagakerjaan

1) Status Kepegawaian

Pada saat ini jumlah pegawai Balai Besar POM berjumlah 112 orang yang terdiri dari bagian tata usaha 15 orang, Bidang Pengujian terapeutic, narkotika, obat tradisional, kosmetika dan produk komplemen (teranokoko) 18 orang, Bidang Pengujian Pangan dan Bahan Berbahaya ada 15 orang, Bidang Pengujian Mikrobiologi ada 12 orang, Bidang pemeriksaan dan Penyidikan ada 28 orang, dan Bidang Sertifikasi dan Lembaga Informasi Konsumen (Serlik) ada 20 orang. Bagian Keamanan ada 4 orang.

2) Jam Kerja

Jam kerja pegawai Balai Besar POM Yogyakarta yaitu 8 jam 30 menit kerja efektif dan dikurangi 1 jam istirahat. Jam kerja dimulai dari pukul 08.00 WIB sampai pukul 16.30 WIB selama 5 hari kerja yaitu Senin sampai Jumat. Libur pegawai yaitu pada hari Sabtu, Minggu dan hari-hari besar nasional.

3) Sistem Perekrutan Karyawan

Perekrutan karyawan di Balai Besar POM Yogyakarta melalui pendaftaran CPNS, dengan persyaratan dan penempatan telah ditentukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Pusat. Sehingga Balai Besar POM hanya sebagai pelaksana administrasi persyaratan dan tempat pelaksanaan test.

4) Fasilitas Kerja

a) Sarana dan Prasarana

1. Gedung

Balai Besar POM Yogyakarta beralamatkan di jalan Tompeyan, Tegalrejo, Yogyakarta dibangun diatas tanah seluas 3.784 m² dengan luas bangunan 2.768,8 m².

Dalam menjalankan tugas dan fungsinya, BBPOM mempunyai 2 gedung yang digunakan yaitu Gedung Utama dan Gedung Pemeriksaan dan Pengujian.

2. Penerangan

Sarana penerangan menggunakan fasilitas PLN dengan daya total 166 KVA. Selain itu digunakan mesin generator set dengan daya 100 KVA. Sumber air yang digunakan berasal dari PAM dan 2 (dua) buah sumur gali.

3. Laboratorium terapeetik, narkotika, obat tradisional, kosmetika dan produk komplemen (teranokoko).

Laboratorium terapeetik, narkotika, obat tradisional, kosmetika dan produk komplemen (teranokoko). merupakan tempat melakukan berbagai kegiatan pengujian pada sampel terapeetik, narkotika, obat tradisional, kosmetik dan produk komplemen lainnya.

4. Laboratorium Pangan

Laboratorium Pangan merupakan tempat melakukan berbagai kegiatan pengujian pada produk olahan pangan dan bahan berbahaya.

Laboratorium Pangan merupakan salah satu fasilitas yang harus dimiliki Balai Besar POM. Di laboratorium Pangan, tersedia berbagai alat dan peralatan yang dipergunakan untuk kegiatan pengujian.

5. Laboratorium Mikrobiologi

Laboratorium Pangan merupakan tempat melakukan berbagai kegiatan pengujian mikrobiologi pada produk olahan pangan, obat dan kosmetik.

6. Komunikasi

Sarana komunikasi menggunakan 4 (empat) saluran telepon yang 3 (tiga) diantaranya terhubung dengan faksimili. Untuk pelayanan informasi dan pengaduan konsumen menggunakan nomor telpon/fax (0274) 552250.

Komunikasi dapat juga dilakukan melalui e-mail dengan alamat bpom_yogyakarta@pom.go.id dan bbpomig@yahoo.com., sedangkan khusus untuk pengiriman laporan bulanan Narkotika - Psikotropika yang dikirimkan oleh sarana pelayanan obat (apotik) menggunakan alamat pemdik.bpomyk@yahoo.co.id

b) Sarana Penunjang

- Kantin
- Kamar Mandi
- Musholla
- Koperasi
- Tempat Parkir
- Pos Keamanan

c) Gaji

Pegawai menerima gaji setiap bulan pada awal bulan, yaitu setiap tanggal 1. Sedangkan nominalnya disesuaikan dengan status dan kedudukan pegawai atau karyawan.

B. Keadaan Khusus di Bagian Pengujian Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta

1. Laboratorium Pengujian Mikrobiologi BBPOM Yogyakarta

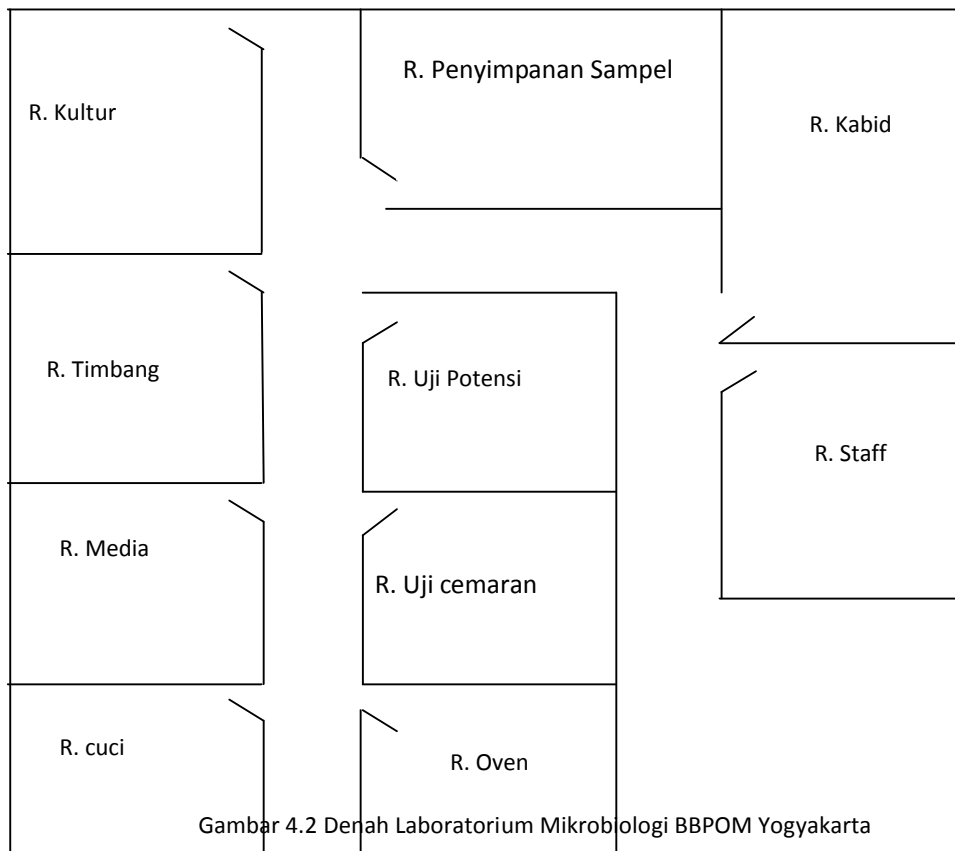
Laboratorium mikrobiologi adalah tempat melakukan berbagai kegiatan pengujian secara mikrobiologi dan merupakan salah satu laboratorium penunjang yang

harus ada disetiap Balai besar Pengawas Obat dan Makanan.

Kegiatan yang dilakukan adalah pengujian mutu secara mikrobiologi dalam rangka pengawasan terhadap suatu produk, yang bertujuan untuk mendeteksi cemaran mikroba yang dapat membahayakan kesehatan.

Laboratorium Pengujian mikrobiologi terletak terpisah dari ruang uji lain seperti kimia dan biologi, begitu pula tata letaknya disesuaikan dengan jenis uji untuk menghindari kontaminasi silang yang nantinya akan mempengaruhi hasil uji karena akan mempengaruhi hasil uji mikrobiologi.

Laboratorium mikrobiologi di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan Yogyakarta dibagi menjadi 10 ruangan yaitu ruang destruksi atau cuci, ruang oven, ruang media, ruang uji potensi, ruang uji cemaran, ruang timbang, ruang sterilitas, dan ruang penyimpanan sampel, ruang kepala bidang, dan ruang staff. Layout laboratorium Mikrobiologi tergambar pada denah dibawah ini



Gambar 4.2 Denah Laboratorium Mikrobiologi BBPOM Yogyakarta

- Ruang cuci

Digunakan untuk membersihkan semua peralatan yang digunakan setelah pengujian selesai.

- Ruang oven

Digunakan untuk mensterilisasi alat dan media yang akan digunakan dalam pengujian mikrobiologi.

- Ruang media

Digunakan untuk mempersiapkan dan membuat media dan reagen yang diperlukan dalam pengujian mikrobiologi.

- Ruang timbang

Digunakan untuk menimbang sampel yang akan di uji mikrobiologi

- Ruang uji cemaran

Digunakan untuk pengujian mikrobiologi yang akan mendeteksi cemaran mikroba yang ada pada sampel.

- Ruang uji potensi

Digunakan untuk pengujian potensi antibiotika.

- Ruang kultur

Digunakan sebagai tempat penyimpanan kultur mikroba dan pengamatan mikrobial secara mikrobiologi.

- Ruang penyimpanan sampel

Digunakan untuk menyimpan sampel yang akan di uji.

- Ruang kepala bidang

Sebagai ruang kerja kepala bidang laboratorium mikrobiologi.

- Ruang staff

Sebagai ruang staff penguji mikrobiologi, dan juga ruang untuk mengolah data hasil pengujian.

2. Peralatan atau Instrument

Untuk memperoleh ketepatan dan ketelitian hasil pengujian khususnya pada laboratorium mikrobiologi, maka laboratorium ini seharusnya memenuhi ketentuan dan

persyaratan yang harus dipenuhi, yaitu harus mempunyai peralatan yang cukup disesuaikan dengan uji, sumber daya manusia yang mampu melakukan pengujian secara baik. Oleh karena itu laboratorium mikrobiologi harus dilengkapi dengan sarana maupun prasarana yang memadai, mempunyai kemampuan uji yang baik dan pengujian yang handal hingga dapat berperan dalam pengawasan mutu dengan baik. Peralatan yang terdapat di laboratorium mikrobiologi Balai Besar POM Yogyakarta sebagai berikut

a. *Top Loading Balance*

Top Loading Balance digunakan untuk menimbang sampel. Memiliki kemampuan dan ketelitian penimbangan yang bervariasi. *Top Loading Balance* yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi yaitu Top Loading Balance Denver XS – 140.



Gambar 4.3 Top Loading Balance

b. *Hotplate Stirrer*

Hot plate stirrer dan *Stirrer bar (magnetic stirrer)* berfungsi untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan. Pelat (*plate*) yang terdapat dalam alat ini dapat dipanaskan sehingga mampu mempercepat proses homogenisasi. Pengadukan dengan bantuan batang magnet *Hot plate* dan *magnetic stirrer* mampu menghomogenkan sampai 10 L, dengan kecepatan sangat lambat sampai 1600 rpm dan dapat dipanaskan sampai 425°C.



Gambar 4.4 Hotplate Stirrer

c. *Stomacher*

Stomacher merupakan suatu alat yang digunakan untuk menghomogenkan sampel beserta pengencernya. *Stomacher* yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi Balai Besar POM Yogyakarta yaitu *Stomacher seward BA 7021*.



Gambar 4.5 Stomacher

d. *Tubimixer*

Tubimixer adalah alat yang dapat digunakan untuk mencampur bahan atau untuk menghomogenkan setiap pengenceran dalam pengujian. *Tubimixer* yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi yaitu *Tubimixer Labinco L24*.



Gambar 4.6 Tubimixer

e. *Laminar Air Flow*

Laminar Air Flow (LAF) adalah ruangan yang kondisi lingkungannya dapat diatur sehingga akan tercipta ruangan dengan kondisi sesuai keinginan. Kondisi lingkungan yang diinginkan dapat tercipta melalui pengaturan tombol pengaturan udara serta penyaring aliran udara sehingga menjadi steril dan aplikasi sinar UV beberapa jam sebelum digunakan. *Laminar Air Flow* digunakan sebagai ruang untuk menginokulasi, menginkubasi, atau memanen mikroba.



Gambar 4.7 Laminar Air Flow

f. Inkubator

Inkubator adalah alat untuk menginkubasi atau memeram mikroba pada suhu yang terkontrol. Alat ini dilengkapi dengan pengatur suhu dan pengatur waktu. Incubator yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi yaitu *Incubator Heraeus B 5042 E*, *Incubator Heraeus 50283*, *Incubator Heraeus 5060 E*, *Incubator Binder 14 D-78532*, *Incubator Labline*.



Gambar 4.8 Incubator

g. Oven

Oven merupakan suatu alat yang digunakan untuk mensterilkan peralatan, yaitu sterilisasi secara kering. Suhu yang digunakan $160^{\circ}\text{--}175^{\circ}\text{C}$ selama sekurang-kurangnya 10 menit. Bahan-bahan yang biasa disterilkan dengan alat ini antara lain pipet, tabung reaksi, cawan petri, botol sampel. Bahan-bahan yang disterilkan harus dilindungi dengan cara membungkus, menyumbat atau menaruhnya dalam suatu wadah tertutup serta mencegah kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven. Oven yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi yaitu *Oven Memert TV 40 Li 562267*, *Oven Memert UM 500 B 5970198*, *Oven Memert UM 500 B 5930402*.



Gambar 4.9 Oven

h. Autoclave

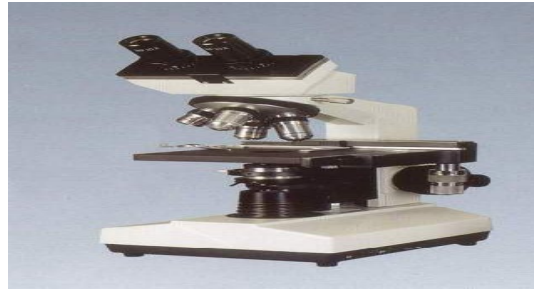
Autoclave adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan atau sterilisasi basah. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121°C (250°F). Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk 121°C. Maka sterilisasi basah dapat digunakan untuk mensterilisasi bahan apa saja yang dapat ditembus uap air. Bahan yang biasa disterilkan dengan alat ini antara lain media biakan, air suling, peralatan laboratorium dan bahan-bahan lain dari karet. *Autoclave* yang digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi yaitu *Autoclave Hiramaya HA-240 MIV/300* dan *Autoclave ALP*.



Gambar 4.10 Autoclave

i. Mikroskop

Mikroskop adalah alat untuk melihat sel mikroorganisme. Dengan mikroskop maka dapat mengamati sel bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada umumnya mata tidak mampu membedakan benda dengan diameter lebih kecil dari 0,1 mm. sehingga dengan bantuan mikroskop dapat mengamati morfologi mikroba.



Gambar 4.11 Mikroskop

3. Pengujian Mikrobiologis Pada Produk Pangan

Jenis mikroba yang terdapat dalam makanan meliputi bakteri, kapang atau khamir serta virus yang dapat menyebabkan perubahan-perubahan yang tidak diinginkan serta penampilan, tekstur, rasa, dan bau dari makanan. Banyak faktor yang mempengaruhi jumlah serta jenis mikroba yang terdapat dalam makanan itu sendiri, diantaranya adalah sifat makanan itu sendiri (pH, kelembaban, nilai gizi), keadaan lingkungan dari mana makanan tersebut diperoleh, serta kondisi pengolahan ataupun penyimpanan. Jumlah mikroba yang terlalu tinggi dapat mengubah karakter organoleptik, mengakibatkan perubahan nutrisi atau nilai gizi bahkan merusak makanan tersebut. Bahkan bila terdapat mikroba patogen, besar kemungkinan akan berbahaya bagi yang mengkonsumsi.

Dalam rangka pengawasan mutu produk pangan, salah satunya aspek mikrobiologis maka dilakukan pengujian laboratorium untuk mengisolasi dan mengidentifikasi cemaran bakteri patogen yang mungkin ada dan untuk beberapa jenis mikroba dapat pula dilakukan perhitungan jumlah koloni atau *enumerasi*.

Pengujian sampel produk pangan selalu mengacu kepada persyaratan makanan yang sudah ditetapkan. Metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis sangat ditentukan oleh persyaratan yang diacu.

Pada pengujian mikrobiologi pangan ini, akan menguji sampel Abon Ikan Tuna dan Kecap. Dimana pengujian mikrobiologis sampel Abon Ikan Tuna akan mengacu pada persyaratan Abon Ikan Tuna (SNI 01-3707-1995) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN *coliform*, identifikasi *Salmonella*, angka *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pengujian mikrobiologis sampel Kecap juga akan mengacu pada persyaratan Kecap (SNI 01-3543-1994) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN *coliform*, MPN *Escherichia coli*, angka kapang.

a. Uji Angka Lempeng Total (ALT) dalam Makanan dan Minuman

Uji Angka Lempeng Total (ALT) dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 61/MIK/06, yaitu merupakan Prosedur Operasional Baku Metode Analisis Mikrobiologi BPOM RI dan pustaka syarat SNI 01-3707-1995 untuk sampel Abon Ikan Tuna dan SNI 01-3543-1994 untuk sampel kecap.

1) Ruang Lingkup :

Metode ini digunakan untuk menetapkan angka bakteri aerob mesofil dalam makanan&minuman.

2) Prinsip

Pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai.

3) Pereaksi Khusus

a) Media&Pengencer

- *Pepton dilution fluid* (PDF)
- *Plate Count Agar* (PCA+1% TTC)

b) Pereaksi :

Tri Phenyl tetrazalim Chlotide 0,5 % (TTC)

4) Peralatan Khusus

- a) Stomacher
- b) Cawan Petri
- c) Tabung reaksi
- d) Erlenmeyer
- e) Pipet ukur mulut lebar
- f) Alat hitung koloni

5) Prosedur Kerja dan Perhitungan

Pada lampiran 1.1 Flow Chart Uji Angka Lempeng Total

b. Uji Angka Paling Mungkin (MPN) Coliform dalam Makanan dan Minuman

Uji Angka Paling Mungkin (MPN) Coliform dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 69/MIK/06 dan pustaka syarat SNI 01-3707-1995 untuk sampel Abon Ikan Tuna dan SNI 01-3543-1994 untuk sampel kecap.

1) Ruang Lingkup

Metode ini digunakan untuk menetapkan MPN Coliform dalam makanan atau minuman.

2) Prinsip :

Pertumbuhan bakteri coliform setelah dicuplikan diinokulasikan pada media cair yang sesuai, dengan mengamati adanya reaksi fermentasi dan pembentukan gas dalam tabung durham.

3) Pereaksi Khusus (Media dan pengencer) :

- a) *Pepton Dilution Fluid* (PDF)
- b) *Mac Conky Broth* (MCB)
- c) *Briliant Green Lastose Bile 2 % Broth* (BGLB)

4) Peralatan Khusus

- 1) Stomacher
- 2) Erlenmeyer
- 3) Pipet ukur mulut ukuran 1 ml, 5 ml, 10 ml
- 4) Tabung reaksi dilengkapi tabung durham

5) Prosedur Kerja dan Pernyataan Hasil

Pada lampiran 1.2 Flow Chart Uji MPN *Coliform*

c. Uji Salmonella dalam Makanan dan Minuman

Uji Salmonella dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 74/MIK/06 dan pustaka syarat SNI 01-3707-1995 yaitu SNI sampel Abon Ikan Tuna

1) Ruang Lingkup

Metode ini digunakan untuk menetapkan adanya *Salmonella* dalam makanan dan minuman.

2) Prinsip

Ada 4 tahap untuk mendeteksi adanya *Salmonella* yaitu

- a) Pra. Pengkayaan dalam media cair non selektif yang diinkubasi pada $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 18 ± 2 jam.
- b) Pengkayaan dalam media cair selektif yang diinkubasi pada $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 3 jam dalam RVS (*Rappaport Vassiliadis Medium*) cair dan $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 3 jam MKTTn (*Muller Kaufmann Tetrathionate Novobiocin Broth*) cair.
- c) Inokulasi dan identifikasi dalam 2 media padat selektif, media selektif yaitu BGA (*Bismuth Green Agar*) dan (XLD) *Xylose Lysine Deoxycholate* diinkubasi pada $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 ± 3 jam.
- d) Konfirmasi terhadap identitas *Salmonella* dengan uji biokimia dan serologi.

3) Perekasi Khusus

a) Media dan Pengencer

- *Buffered Peptone Water* (BPW)
- *Muller Kaufmann Tetrathionate Novobiocin Broth* (MKTTn)
- *Rappaport Vassiliadis Medium* + Soya (RVS)
- *Bismuth Green Agar* (BGA) atau *Brilliant Green Phenol red lactose Sucrose Agar* (BPLS)
- *Xylose Lysine Deoxycholate* (XLD)
- *Tryptic Soy Agar* atau Nutrient Agar Miring
- Urea Agar (*Christensen*)
- *L.Lysine Decarboxy Lase Medium*
- *Tryptophan Medium / Tryptone Broth*
- MR-VP medium
- Larutan Natrium Klorida 0,85 %
- Nutrient Agar (NA) semi padat

b) Perekasi

- Larutan Alfa Naftol
- Larutan KOH 40 %

- Kovac
- Cakram kertas ONPGC *O-nitrophenyl betagalactopiranoside*
- *Salmonella* antisera polivalen D, H & Vi

c) Mikroba baku

Salmonella Typhimurium ATCC 14028

4) Peralatan khusus Stomacher/blender

- a) Stomacher
- b) Erlenmeyer
- c) Cawan Petri
- d) Tabung reaksi
- e) Pipet ukur berskala, mulut lebar dengan ukuran 1 ml & 10 ml
- f) Incubator/tangas air pada 37 ± 1 °C
- g) Incubator/tangas air pada $41,5 \pm 1$ °C

5) Prosedur Kerja

Pada Lampiran 1.3 Flow Chart Uji *Salmonella*

6) Interpretasi Hasil

TSIA	: <i>butt</i> = positif ; <i>slant</i> = negatif ; gas = positif H ₂ S negative/positif
Hidrolisis urea	: negative
Dekarbosilasi Lysine	: positif
β-Galaktosidase	: negative
Reaksi Voges	: negative

7) Persyaratan

Makanan atau minuman tidak boleh mengandung *Salmonella* (negative per 25 gram atau 25 ml).

d. Uji *Staphylococcus aureus* dalam Makanan dan Minuman

Uji Angka *Staphylococcus aureus* dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 66/MIK/06 dan pustaka syarat SNI 01-3707-1995 untuk sampel Abon Ikan Tuna.

1) Ruang Lingkup

Metode ini digunakan untuk menetapkan angka *Staphylococcus aureus* dalam makanan dan minuman.

2) Prinsip

Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media lempeng yang sesuai, mereduksi Kalium telurit, menghidrolisis kuning telur dan mengkoagulasi plasma.

3) Pereaksi Khusus

a) Media

- *Baird Parker Agar + Egg Yolk Tellurite* (BPA-EY)
- *Barin Heart Infusion Broth* (BIHB)
- *Buffered Peptone Water* (BPW)
- *Trypticase Soy Agar* (TSA)

b) Pereaksi

- *Egg Yolk Tellurite* (5 % emulsi kuning telur dalam NaCl 1:1 + 1% Kalium Telurit 1%)
- Koagulase Plasma Kelinci & EDTA

c) Mikroba Baku

Staphylococcus aureus ATCC 25923

4) Peralatan Khusus

- a) Stomacher
- b) Tabung reaksi
- c) Erlenmeyer
- d) Pipet Ukur Mulut Lebar
- e) Batang gelas Bengkok
- f) Incubator
- g) Cawan Petri

5) Prosedur Kerja, Konfirmasi dan Perhitungan

Pada Lampiran 1.4 Flow Chart Uji *Staphylococcus aureus*

- e. Uji Angka Paling Mungkin (MPN) *Escherichia coli* dalam Makanan dan Minuman

Uji Angka Paling Mungkin (MPN) *Escherichia coli* dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 72/MIK/06 dan pustaka syarat SNI 01-3543-1994 untuk sampel kecap.

1) Ruang Lingkup

Metode ini digunakan untuk menetapkan angka paling mungkin (MPN) *Escherichia coli* dalam makanan dan minuman.

2) Prinsip

Pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* setelah cuplikan diinokulasi pada media cair yang sesuai dengan mengamati adanya reaksi fermentasi dan pembentukan gas didalam tabung Durham, dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi *E.coli*.

3) Pereaksi Khusus

a) Media & pengencer

- *Pepton Dilution Fluid* (PDF)
- *Mac Conkey Broth* (MCB)
- *Echerichia coli broth* (ECB)
- *Eosyn Methylen Blue Agar* (EMBA)
- *Tryptone Broth*
- MR-VP Medium
- *Simmon's Citrase Agar* (SCA)
- Nutrient Agar (NA) atau *Trypticase Soy Agar* (TSA)

b) Pereaksi

- Larutan Kovac
- Larutan Alfa naftol
- Larutan KOH 40 %

c) Mikroba Baku

Escherichia coli ATCC 25922

4) Peralatan Khusus

- a) Stomacher
- b) Tabung reaksi
- c) Erlenmeyer
- d) Pipet ukur mulut lebar ukuran 25 ml
- e) Tabung reaksi dilengkapi tabung durham.

5) Prosedur Kerja dan Pernyataan Hasil

Pada Lampiran 1.5 Flow Chart Uji MPN *Escherichia coli*

f. Uji Angka Kapang dalam Makanan dan Minuman

Uji Angka Kapang dalam Makanan dan Minuman menggunakan acuan MA PPOM 62/MIK/06 dan pustaka syarat SNI 01-3543-1994 untuk sampel kecap.

1) Ruang Lingkup

Metode ini digunakan untuk menetapkan angka kapang/khamir dalam makanan&minuman.

2) Prinsip

Pertumbuhan kapang/khamir setelah cuplikan diinokulasikan pada media yang sesuai&diinkubasi pada suhu 20-25

3) Pereaksi Khusus

a) Media&Pengencer

- *Pepton Dilution Fluid* (PDF)
- *Potato Dextrose Agar* (PDA) + kloramfenikol (100 mg/l) (0,01%)
- Air Suling Agar 0,05 % (ASA)

b) Pereaksi

100 mg kloramfenikol per liter media

4) Peralatan Khusus

- a) Lemari aseptik
- b) Stomacher/blender
- c) Pipet ukur mulut lebar

5) Prosedur Kerja dan Perhitungan

Pada Lampiran 1.6 Flow Chart Uji Angka Kapang

C. Kajian Pengujian Mikrobiologis Pada Abon Ikan Tuna dan Kecap

Karakteristik mikrobiologi adalah salah satu kriteria mutu dan keamanan bahan atau produk pangan. Oleh karena itu pengujian karakteristik mikrobiologi seringkali dilakukan untuk memenuhi berbagai kriteria mikrobiologi yang diberlakukan untuk suatu bahan atau produk pangan. Berbagai metode pengujian mikrobiologi telah diterapkan dan dilakukan.

Berikut ini analisa mikrobiologi selama magang atau Praktek Kerja Lapang di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Yogyakarta :

1. Pengujian Mikrobiologi Abon Ikan Tuna

Bahan makanan yang berasal dari ikan selain sebagai sumber protein yang nilainya tinggi juga merupakan salah satu media yang baik bagi berkembang biakan mikroorganisme dan dapat bertindak sebagai pembawa beberapa jenis penyakit yang kadang kadang sifatnya berbahaya bagi manusia. Pengawasan cemaran mikroba dalam bahan makanan asal ikan sangat penting terutama dalam kaitannya dengan perlindungan kesehatan dan keamanan konsumen.

Berkaitan dengan hal tersebut, upaya untuk memberikan jaminan terhadap bahan makanan asal ikan terus dilakukan, salah satunya adalah dengan melaksanakan pengujian cemaran mikrobiologi.

Produk olahan dari ikan salah satunya abon ikan tuna. Pengujian cemaran mikroba produk pangan ini berdasarkan syarat dari SNI produk pangan tersebut. Sesuai SNI Abon Ikan Tuna, adapun yang perlu dilakukan pada uji cemaran yaitu uji Angka Lempeng Total (ALT), uji MPN *Coliform*, uji *Salmonella*, uji *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian mikrobiologis abon ikan tuna dapat dilihat pada tabel sebagai berikut

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Mikrobiologis pada Abon Ikan Tuna

No	Uji yang dilakukan	Hasil	Syarat	Pustaka	Keterangan
1	Angka Lempeng Total	40×10^5 kol/g	Maks 5×10^4 kol/g	MA PPOM 61/MIK/06	TMS
2	MPN Coliform	3 + APM/g	Maks 10 APM/g	MA PPOM 69/MIK/06	MS
3	Angka <i>Staphylococcus aureus</i>	< 10 koloni	0 koloni	MA PPOM 66/MIK/06	MS

4	<i>Salmonella</i>	Negatif kol/25g	Negatif kol/25g	MA PPOM 74/MIK/06	MS
---	-------------------	-----------------	-----------------	----------------------	----

a. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Untuk mengetahui bahwa produk olahan pangan tidak mengalami perubahan sifat serta bebas dari kontaminasi mikroba, maka diperlukan uji mikrobiologis, yang meliputi pengujian Angka Lempeng Total.

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) digunakan untuk menetapkan angka bakteri anaerob mesofil dalam makanan dan minuman dengan menginokulasikan pada media lempeng agar, media agar yang digunakan adalah PCA. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C – 37° C.

Dalam persyatan Uji cemaran Mikrobiologi, salah satu pengujian yang dilakukan yaitu uji Angka Lempeng Total (ALT). Persyaratan yang disyaratkan dalam SNI 01-3707-1995 untuk Abon Ikan Tuna bahwa Angka Lempeng Total yaitu Maks 5 x 10⁴ kol/g.

Pada Uji Angka Lempeng Total, dibuat pengenceran hingga 10⁻⁵ dengan pengencer larutan PDF. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan koloni yang tumbuh secara terpisah dan agar dapat dihitung dengan mudah. Hal ini akan sangat membantu terutama untuk sampel dengan cemaran yang sangat tinggi. Setiap tahap pengenceran, harus dilakukan homogenisasi sampel yang merupakan tahap pendahuluan yang berguna untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin.

Media penumbuh yaitu PCA dan ditambah dengan TTC (*Tri Phenyl Tetrazalim Chlotide*). Penambahan TTC ini bertujuan untuk membantu dalam menghitung mikrobia yang tumbuh pada cawan petri. Dimana TTC ini akan diserap oleh mikrobia sehingga pada saat pertumbuhan, mikrobia akan berwarna merah. Hal ini dapat membedakan antara mikrobia yang tumbuh dengan media dalam cawan petri sehingga mikrobia yang tumbuh dapat dihitung. Untuk penumbuhan mikrobia, waktu inkubasi pada suhu 35°-37° C selama 24 jam sampai 48 jam dengan posisi cawan petri dibalik. Pengamatan dan perhitungan dilakukan pada inkubasi setelah 24 jam dan 48 jam.

Dari hasil perhitungan uji angka lempeng total pada sampel abon ikan tuna yaitu 40 x 10⁵ koloni/gram. Hasil ini tidak sudah sesuai dengan persyaratan yang

telah ditetapkan SNI 01-3707-1995 bahwa cemaran mikroba yang mensyaratkan angka lempeng total pada abon ikan tuna maksimal 5×10^4 kol/gr.

Berdasarkan hasil pengujian sampel produk olahan ikan Abon Ikan Tuna yang tersaji dalam tabel diatas bahwa produk ini tidak memenuhi syarat atau TMS uji cemaran mikroba SNI 01-3707-1995. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti pengambilan bahan dasar ikan tuna yang mudah terkontaminasi dan proses pembuatannya yang banyak melibatkan alat-alat rumah tangga yang sterilitasnya kurang terjamin.

Dengan demikian secara umum tingkat higiene dan sanitasi proses pengolahan masih rendah bila dibandingkan dengan persyaratan yang ditetapkan dalam Standar Nasional Indonesia. Rendahnya higiene Abon Ikan Tuna yang diuji disebabkan karena tingginya cemaran mikroba yang mencemari sampel tersebut. Jumlah cemaran mikroba mencerminkan kualitas mikrobiologi pangan Abon Ikan Tuna.

Dengan hasil uji Angka Lempeng Total pada sampel abon ikan tuna yang tidak memenuhi syarat maka dari pihak Balai Besar POM akan menindak lanjuti hasil pengujian kepada pihak produsen yang memproduksi Abon Ikan Tuna untuk memperbaiki sistem produksi dan bahan baku yang digunakan yaitu dengan menerapkan higiene dan sanitasi yang baik/higienis atau *good manufacuring practice* (GMP).

b. Uji MPN Coliform

Analisis mutu abon ikan tuna akan kehadiran bakteri *Coliform* dilakukan berdasarkan Prosedural Operasional Baku Metode Analisis Mikrobiologi Badan Pengawas Obat dan Makanan.

Metode pengujian MPN ini digunakan untuk mengetahui adanya bakteri *Coliform* dalam makanan dan minuman dan metode ini dilakukan untuk menghitung jumlah mikroba di dalam contoh yang berbentuk cair. Dimana pertumbuhan bakteri *Coliform* setelah dicuplikan atau diinokulasikan pada media cair yang sesuai, kemudian diamati adanya reaksi fermentasi dan pembentukan gas dalam tabung durham.

Pembacaan hasil uji dilihat dari berapa tabung uji yang menghasilkan gas dan asam (3 seri pertama, kedua dan ketiga), hasil yang positif asam dan gas dibandingkan dengan tabel MPN/JPT (Jumlah Perkiraan Terdekat). Tabel tersebut

dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri *colifom* dalam 25 gram sampel makanan.

Data dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Data dari sampel Abon ikan tuna setelah dianalisis di laboratorium pengujian mikrobiologi, akan dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) sampel Abon ikan tuna tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam makanan yaitu SNI 01-3707-1995.

Dari hasil pengujian di laboratorium Mikrobiologi pada sampel abon ikan tuna didapatkan bahwa tidak terbentuk gas pada tabung Durham. Ini menunjukkan bahwa sampel Abon Ikan Tuna tersebut tidak mengandung bakteri *Coliform*, dimana nilai MPN seri 3 tabung adalah 0-1-0 dengan indeks MPN 3+ per gram/ml. Berarti MPN *Coliform*/25 gram contoh ialah 3+ APM/g.

Dari hasil pengujian, didapatkan bahwa sampel Abon Ikan Tuna tidak mengandung bakteri *Coliform*. Dapat dilihat pada uji praduga dengan menggunakan media MCB, setelah inkubasi 24 jam pada pengenceran 10^{-2} seri tabung ke 3 dan pengenceran 10^{-3} seri tabung ke 2 menunjukkan hasilnya positif (+). Selanjutnya untuk inkubasi 48 jam yang menunjukkan hasil positif (+) yaitu pada pengenceran 10^{-2} seri tabung ke 1 dan ke 3. Dari uji praduga yang menunjukkan positif kemudian dilanjutkan uji penegasan dengan media BGLB. Sedangkan hasil yang menunjukkan negatif (-) tidak diteruskan ke uji penegasan

Hasil uji penegasan untuk inkubasi 24 jam yang menunjukkan positif yaitu pengenceran 10^{-2} seri tabung 1. Dan dilanjutkan inkubasi 48 jam, hasilnya menunjukkan positif yaitu pengenceran 10^{-2} seri tabung 1. Dari hasil uji praduga dan penegasan didapatkan kombinasi tabung positif yaitu 0-1-0. Hasil ini dirujuk pada tabel MPN seri 3 tabung. Pada tabel MPN menunjukkan kombinasi jumlah tabung yang positif 0-1-0 yaitu nilai MPN 3+ per gram/ml. Jadi nilai duga terdekat (MPN) *coliform* pada Abon Ikan Tuna ialah 3+ APM/g.

Nilai MPN dari tabel MPN 3 seri dapat diketahui MPN mikroba sebesar 3 APM/g. Didapat dari hasil perhitungan sebagai berikut

$$\begin{aligned}
 \text{MPN mikroba} &= \text{NilaiMPN} \times \frac{1}{\text{pengenceran tabung yang ditengah}} \\
 &= (3 \times 10^{-2}) \times \frac{1}{10^{-2}} \\
 &= (3 \times 10^{-2}) \times 10^2 \\
 &= 3 \text{ APM/gram}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan SNI 01-3707-1995 menyebutkan bahwa syarat-syarat uji cemaran mikrobiologis untuk Abon yaitu jumlah maksimal bakteri *Coliform* pada Abon Ikan Tuna adalah Maks 10 APM/gram. Jadi berdasarkan hal itu dimana hasil uji praduga dan uji penegasan *Coliform* dimana nilai MPN adalah 3+ APM/gram menunjukkan MPN mikroba sebesar 3 APM/g maka Abon ikan tuna memenuhi syarat SNI abon ikan tuna.

c. Uji *Salmonella*

Uji *Salmonella* digunakan untuk mengetahui dan menetapkan adanya *Salmonella* dalam makanan dan minuman. *Salmonella* merupakan bakteri indikator keamanan pangan, karena *Salmonella* bersifat pathogen sehingga terdapatnya bakteri ini dalam makanan dan air dianggap membahayakan kesehatan. Oleh karena itu berbagai standar makanan maupun air minum mensyaratkan bahwa tidak ada *Salmonella* dalam 25 gram sampel makanan atau 100 ml air minum. Dengan demikian, penting untuk memastikan bahwa produk pangan dan minuman yang diproduksi dan konsumsi harus bebas dari *Salmonella*.

Pengujian *Salmonella* memerlukan tahapan yang cukup panjang dan dengan pengujian yang lengkap maka dapat mengetahui serta menyimpulkan keberadaan *Salmonella*. Ada 4 tahap dalam mendeteksi adanya *Salmonella* dalam makanan dan minuman yaitu pra pengkayaan, tahap pengkayaan selektif, tahap isolasi pada beberapa media selektif dan tahap identifikasi berdasarkan reaksi-reaksi biokimia pada media identifikasi, serta konfirmasi serologi atau biokimiawi yang menetapkan apakah bakteri tersebut benar-benar *Salmonella* atau bukan.

Produk olahan ikan, seperti Abon Ikan Tuna biasanya terkontaminasi oleh *Salmonella*, sehingga berdasarkan syarat uji cemaran dalam Standar Nasional Indonesia harus dilakukan pengujian *Salmonella*. Pengujian juga ini bertujuan untuk mengetahui kualitas makanan dari produk olahan ikan dengan melihat sifat fisik, stabilitas wadah, menghitung angka bakteri *Salmonella* dalam sampel Abon Ikan Tuna yang telah memenuhi syarat yang sesuai dengan SNI 01-3707 1995. Hasil pengujian pemerian diketahui sampel ini berbentuk serbuk, berwarna coklat, mempunyai rasa gurih, wadah masih tertutup rapat serta lengkap sesuai dengan syarat labeling.

Hasil pengujian pada sampel abon ikan tuna yaitu biakan tahap pra pengkayaan selektif media MKTTn dan RVS diinokulasikan ke dalam media BGA dan XLD. Pada tahap pra pengkayaan ini, menurut Anonim^e. 2009 bertujuan untuk

menumbuhkan dan memperbanyak jumlah *Salmonella*, menghambat pertumbuhan bakteri lainnya, dan untuk menyeleksi serta membedakan *Salmonella*.

Dari biakan BGA yang berasal dari MKTTn menunjukkan ada pertumbuhan koloni yang berwarna kuning, besar dan berlendir, begitu juga untuk media RVS yang hasilnya sama. Sedangkan biakan media XLD yang berasal dari MKTTn juga menunjukkan adanya pertumbuhan koloni berwarna kuning, kecil dan yang berasal dari media RVS menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna kuning kecoklatan dan besar. Hasil ini tidak sama dengan kontrol positif, dimana kontrol positif ini digunakan sebagai pembanding. Dari kontrol positif menunjukkan bahwa pada media BGA koloni terlihat tidak berwarna, merah muda, translusen hingga keruh dengan lingkaran merah muda sampai merah. Sedangkan media XLD terlihat koloni transluse dengan bintik hitam ditengahnya dan dikelilingi zona transparan warna kemerahan. Dari hasil tahap inokulasi dan identifikasi terlihat perbedaan antara sampel abon ikan tuna dengan kontrol positif, hal ini berarti sampel Abon ikan tuna negative. Sehingga pengujian tidak diteruskan ke tahap konfirmasi.

Dari hasil pengujian *Salmonella* diperoleh hasil angka *Salmonella* abon yaitu negatif koloni/25 gram. Hasil ini telah memenuhi syarat dalam SNI 01-3707-1995 yaitu negatif koloni/25 gram. Sehingga produk olahan Abon Ikan Tuna aman untuk dikonsumsi.

Apabila pada tahap inokulasi dan identifikasi menunjukkan hasil positif maka dilakukan uji biokimia dan serologis. Uji ini bertujuan untuk memastikan serotipe *Salmonella sp.* Uji Biokimia yang dilakukan yaitu Uji TSIA, Uji Urease, Uji Dekarboksilasi Lysin, Uji Voges Proskauer, Uji Indol, Uji β Galaktosidase.

Dalam analisis *Salmonella* ini, untuk mengetahui proses tahap konfirmasi yaitu uji biokimia dan uji serologi maka dilakukan pengujian ini. Sampel yang dilakukan pengujian yaitu kontrol positif. Hasil pengujian dilihat pada tabel sebagai berikut

Tabel 4.2 Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif *Salmonella*

Uji Biokimia	Keterangan
TSIA	butt = positif (+) ;

	slant=negatif (-) ; gas=positif H ₂ S negative/positif
Hidrolisis urea	Negative (-)
Dekarbosilasi Lysine	Positif (+)
β-Galaktosidase	Negative (-)
Uji Voges Proskauer	Negative (-)
Uji Indol	Positif (+)
Uji serologi	terjadi aglutinasi pada penambahan antisera polivalen O, H, dan Vi.

Pada uji TSIA menggunakan media TSIA, uji ini untuk mengetahui mikroorganisme apakah menghasilkan H₂S. Dikatakan positif apabila ditandai dengan terbentuknya logam sulfid yang berwarna hitam. Dan dikatakan negatif apabila tidak terbentuk logam sulfid yang berwarna hitam karena bakteri yang berada dalam medium tersebut tidak dapat menghidrolisis logam-logam berat yang terkandung dalam medium.

Reaksi yang ditimbulkan apabila sampel teridentifikasi *Salmonella* dapat diamati perubahan warna yang terjadi setelah diinkubasi, apabila terjadi warna kuning pada *butt* (dasar) dan merah pada *slant* (permukaan miring), menunjukkan adanya fermentasi glukosa. Dan terjadi pembentukan gas yang ditandai dengan pembentukan ruang udara dibawah medium sehingga medium terangkat ke atas.

Menurut Fardiaz, 1993 bahwa *Salmonella* bersifat basa dimana tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa, tetapi bakteri memfermentasi glukosa. Pembentukan gas positif ini hasil dari fermentasi H₂ dan CO₂ dapat dilihat dari pecahnya dan terangkatnya media.

Uji Dekarboksilasi Lysin menggunakan media *L. Lysine decarboxylase*. Dalam mengidentifikasi sama seperti uji TSIA, mengamati setelah diinkubasi pada suhu 37±1° C. Indikasi sampel adanya *Salmonella* yaitu terjadi perubahan warna menjadi warna ungu, yang sebelumnya berwarna kuning. Sehingga hasil ini menunjukkan positif indikasi *Salmonella*. Menurut Fardiaz Srikandi, 1993 bahwa *Salmonella* dalam produksi *lisin dekarboksilase* ditandai dengan pembentukan warna ungu, dan jika memproduksi enzim tersebut medium berwarna kuning.

Uji Indol menggunakan media *Tryptone Broth*. Indol yang terbentuk akan berwarna merah dengan penambahan reagen *Kovach*. Dikatakan positif apabila senyawa ini menghasilkan senyawa para amino benzaldehyd yang tidak larut dalam air dan membentuk warna merah pada permukaan medium, terlihat adanya lapisan cincin merah. Menurut Anonim^d, 2009 hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini menggunakan sumber karbon dari asam amino tryptofan. Asam amino triptofan

merupakan komponen asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein.

Uji Voges-Proskauer ini menggunakan media MR-VP, dalam pengujian ditambahkan KOH 40% dan larutan alfa naftol 5%. Dengan penambahan KOH, terjadi perubahan warna medium menjadi merah, dan perubahan ini makin jelas dengan penambahan alfa naftol. Dikatakan sampel teridentifikasi adanya *Salmonella* apabila tidak terjadi perubahan warna medium menjadi merah bata, atau negative.

Hal ini menandakan bahwa *Salmonella* tidak memfermentasikan karbohidrat sehingga tidak menghasilkan asetoin yang ditandai perubahan warna merah pada media setelah ditambahkan larutan KOH dan alfa naftol. Karena perubahan warna merah menunjukkan hasil fermentasi karbohidrat yaitu asetoin. Menurut Anonim^d, 2008 Uji Voges Proskauer digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melakukan fermentase dengan hasil akhir 2,3 butanadiol. Bila bakteri memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3 butanadiol sebagai produk utama akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan. Ditambahkan 40% KOH dan 5% larutan alfa untuk dapat menentukan adanya asetoin (asetil metal karbinol), suatu senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol. Karena uji ini lebih dulu menentukan asetoin, dan seperti yang kita ketahui bahwa asetoin adalah senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol, sehingga dapat dipastikan bahwa dengan adanya asetoin dalam media berarti menunjukkan adanya produk 2,3 butanadiol sebagai hasil fermentasi.

Pada Uji β Galaktosidase ini, sebagai identifikasinya menggunakan cakram ONPG (*o-nitro-phenyl- β -Dgalactopyranoside*). Indikasi sampel adanya *Salmonella* yaitu tidak terjadi perubahan warna menjadi kuning atau negative.

Dimana Uji β Galaktosidase berguna dalam identifikasi mikroorganisme melalui kemampuan fermentasi dimana laktosa digunakan sebagai sumber karbon. Menurut Anonim^d, 2008 Beberapa mikroorganisme seperti *E. coli*, dapat menggunakan laktosa sebagai sumber karbon. Selain laktosa, substrat alamiah dari enzim, adalah bahan yang sangat penting, ONPG (*o-nitro-phenyl- β -Dgalactopyranoside*), dapat digunakan pula. β -galaktosidase dapat mengkatalisis ONPG. ONPG tidak berwarna tetapi setelah hidrolisis menjadi o-nitrofenol, akan timbul warna kuning pada larutan yang alkali. Dari hasil pengujian, menandakan bahwa *Salmonella* tidak menggunakan laktosa untuk proses fermentasi.

Tidak hanya uji biokimia tetapi juga dilakukan uji serologi. Uji serologi dilakukan untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat-sifat antigeniknya. Identifikasi dengan pengamatan terbentuk atau tidaknya aglutinasi atau penjendalan setelah penambahan antisera polivalen atau antigen O, H, Vi. Indikasi adanya *Salmonella* terlihat terbentuknya aglutinasi setelah penambahan antigen O, H, Vi.

Menurut Fardiaz, 1993 *Salmonella* mempunyai beberapa jenis antigen yaitu antigen O (somatik), H (flagella), K (Kapsul), dan Vi (kapsul virulen). Sehingga dalam pengujian serologi, sampel dikatakan positif adanya *Salmonella* ditunjukkan dengan terjadinya aglutinasi setelah penambahan antisera polivalen atau antigen O, H, Vi.

d. Uji *Staphylococcus aureus*

Pada umumnya untuk mengidentifikasi bakteri patogen, misalnya *Staphylococcus aureus*, metode identifikasi dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Analisis produk olahan pangan akan kehadiran bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan berdasarkan Prosedural Operasional Baku Metode Analisis Mikrobiologi Badan Pengawas Obat dan Makanan.

Uji ini untuk menetapkan angka *Staphylococcus aureus* dalam makanan dan minuman. Dimana menumbuhkan *Staphylococcus aureus* pada media lempeng yang sesuai, mereduksi Kalium telurit, menghidrolisis kuning telur dan mengkoagulasi plasma.

Dalam analisis *Staphylococcus aureus* menggunakan hitungan cawan dengan metode tuang. Media pertumbuhan yang digunakan adalah BPA yang ditambahkan dengan Kalium Tellurit (EY).

Identifikasi awal meliputi seleksi pada medium BPA dan EY, uji biokimiawi, dan pewarnaan gram. Selanjutnya dilakukan uji koagulase menggunakan plasma kelinci. Pada uji koagulase, kuman *S. aureus* akan menunjukkan reaksi positif dengan menunjukkan terjadinya aglutinasi dengan serum kelinci pada tabung reaksi

Keberadaan *S. aureus* dalam pangan, khususnya produk olahan hewan juga membahayakan bagi masyarakat karena diketahui bahwa kuman ini mengandung berbagai macam enterotoksin.

Dari hasil pengamatan penumbuhan dicawan petri dengan media BPA diketahui bahwa semua isolate dari pengenceran hasilnya tidak ada dugaan koloni

S. aureus yang tumbuh. Koloni *S. aureus* adalah bulat, halus, konveks, lembab, diameter 2-3 mm, berwarna abu-abu kehitaman.

Apabila pada uji identifikasi dugaan *S. aureus* hasilnya positif maka dilanjutkan pada tahap konfirmasi. Dimana tahap ini untuk mengindikasikan bahwa yang diduga tersebut murni *S. aureus*. Isolate positif diinokulasi pada agar miring TSA dan kemudian diinokulasikan dalam larutan BHIB. Setelah diinkubasi, ditambahkan plasma kelinci, proses terjadi tidaknya koagulasi pada tahap ini. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Faktor koagulase (*coagulase reacting factor*, CRF) serum bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan esterase dan aktivitas pembekuan dengan cara sama seperti pengaktifan protrombin menjadi trombin. Menurut Isrina, 2005 bahwa reaksi ini terjadi berdasarkan reaksi antara *S. aureus* dengan fibrinogen yang terdapat dalam serum yang ditunjukkan dengan media tetap ditempatnya apabila membalikkan tabung. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *S. aureus* ini dapat digunakan sebagai sarana mendiagnosa positif *S. aureus* dan kriteria penentuan *S. aureus*.

Dari pengujian *S. aureus* pada sampel abon ikan tuna diperoleh hasil angka *Staphylococcus aureus* abon adalah < 10 koloni. Hasil ini telah memenuhi syarat dalam SNI 01-3707-1995 yang mensyaratkan angka *Staphylococcus aureus* untuk abon adalah 0 koloni. Dengan pemeriksaan terhadap *Staphylococcus aureus* yang dilakukan, sampel Abon ikan tuna berada pada batas toleransi sehingga aman untuk dikonsumsi.

2. Pengujian Mikrobiologi Kecap

Kecap merupakan produk olahan dari kedelai berupa cairan berwarna hitam yang rasanya manis atau asin. Pengujian ini bertujuan untuk menetapkan kualitas mikrobiologis kecap yang dihasilkan agar sesuai dengan persyaratan terhadap mutu cemaran mikrobiologis yang ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional BSN. Uji mikrobiologis yang dilakukan terhadap Kecap, yaitu uji Angka Lempeng Total (ALT), uji

MPN *coliform*, uji MPN *Eschericia coli*, dan uji angka Kapang. Hasil uji mikrobiologis kecap yaitu

Tabel 4.3 Hasil Pengujian Mikrobiologis pada Kecap

No	Uji yang dilakukan	Hasil	Syarat	Pustaka	Keterangan
1	Angka Lempeng Total	< 10 koloni / g	Maks 10^5 kol/g	MA PPOM 61/MIK/06	MS
2	MPN Coliform	3 + APM /g	Maks 10^2 APM/g	MA PPOM 69/MIK/06	MS
3	MPN <i>E.coli</i>	< 3 APM/g	< 3APM/g	MA PPOM 72/MIK/06	MS
4	Kapang	< 10 koloni/g	Maks 50 kol/g	MA PPOM 62/MIK/06	MS

a. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Populasi bakteri dihitung dengan cara mengencerkan sampel atau bahan uji, dilanjutkan dengan melakukan inokulasi semua hasil pengenceran didalam media. Jumlah koloni yang dapat tumbuh pada media dalam cawan petri dihitung secara manual.

Prosedur uji Angka Lempeng Total yang dilakukan pada sampel kecap sama seperti prosedur uji Angka Lempeng Total yang dilakukan pada sampel Abon Ikan Tuna.

Pada pengujian sampel kecap ini, pengujian ALT dilakukan pengulangan karena hasilnya tidak bisa dibaca dan mikroba yang tumbuh sangat banyak. Hal ini dikarenakan terjadi kontaminasi oleh mikrobia lain. Kontaminasi terjadi karena berbagai faktor, diantaranya metode teknik aseptis yang dilaksanakan tidak berhasil dilakukan sehingga kondisi biakan menjadi tidak steril atau karena alat-alat yang digunakan juga kurang steril.

Dari hasil pengujian ALT sampel kecap, diperoleh bahwa tidak ada pertumbuhan koloni pada cawan petri dan hasilnya menunjukan kurang dari 1 dan dikalikan dengan faktor pengenceran sehingga diperoleh hasil Uji Angka Lempeng Total sebesar < 10 Koloni/g. Hasil ini telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan

dalam SNI 01-3542-1994 yaitu angka lempeng total maksimal 10^5 koloni/g. Hal ini berarti sampel kecap telah memenuhi syarat SNI Kecap yang telah ditetapkan.

b. Uji MPN Coliform

Metode MPN dipergunakan untuk uji kualitas mikrobiologi pada bahan pangan. Metode ini merupakan uji deretan tabung yang menyuburkan pertumbuhan *Coliform* sehingga diperoleh nilai untuk menduga jumlah Coliform dalam sampel yang diuji.

Metode dan prosedur uji MPN coliform yang dilakukan pada sampel Kecap sama dengan metode dan prosedur uji MPN coliform yang dilakukan pada sampel Abon Ikan Tuna.

Dalam metode MPN dikenal dua uji yaitu uji praduga dan uji penegasan. Uji duga dinyatakan positif apabila sampel yang ditanam dalam masa inkubasi dua kali 24 jam memfermentasi laktosa dan memproduksi gas dalam medium tersebut. Selanjutnya uji penegasan dilakukan dengan mengidentifikasi lebih lanjut bakteri tersebut. Uji positif menghasilkan angka indeks yang disesuaikan dengan tabel MPN seri 3 tabung.

Pada sampel kecap, hasil uji praduga pada media MCB menunjukkan hasil positif untuk inkubasi 24 jam yaitu pengenceran 10^{-2} pada tabung seri 2 dan seri 3 serta pengenceran 10^{-3} pada tabung seri 1 dan seri 2. Dilanjutkan lagi inkubasi 48 jam, hasil yang menunjukkan positif ialah pengenceran 10^{-2} pada tabung seri 1 dan 3, serta pengenceran 10^{-3} pada tabung seri 1.

Dari hasil uji praduga inkubasi 48 jam, yang menunjukkan hasil positif kemudian dilanjutkan uji penegasan dalam media BGLB. Sedangkan yang menunjukkan hasil negatif (-) tidak dilanjutkan ke uji penegasan.

Uji penegasan menggunakan media BGLB. Pada inkubasi 24 jam, menunjukkan hasil positif yaitu pengenceran 10^{-2} pada tabung seri 1. Dan dilanjutkan inkubasi 24 jam, hasilnya tetap sama yang menunjukkan hasil positif yaitu pengenceran 10^{-2} pada tabung seri 1.

Hasil yang diperoleh dari uji praduga dan uji penegasan kombinasi tabung positif yaitu 0-1-0. Hasil yang didapat lalu dirujuk pada tabel MPN seri 3 tabung yang menunjukkan angka 3+ APM/gram.

Nilai MPN dari tabel MPN 3 seri dapat diketahui MPN mikroba yaitu sebesar 3 APM/g. Diperoleh dari perhitungan sebagai berikut

$$\begin{aligned}
 \text{MPN mikroba} &= \text{NilaiMPN} \times \frac{1}{\text{pengenceran tabung yang ditengah}} \\
 &= (3 \times 10^{-2}) \times \frac{1}{10^{-2}} \\
 &= (3 \times 10^{-2}) \times 10^2 \\
 &= 3 \text{ APM/gram}
 \end{aligned}$$

SNI 01-3543-1994 menyebutkan bahwa syarat-syarat uji cemaran mikrobiologis untuk Kecap mensyaratkan jumlah maksimal bakteri *Coliform* adalah 10^2 APM/gram. Jadi berdasarkan hal itu dimana nilai MPN adalah 3+ APM/gram, maka kecap yang memenuhi syarat mikrobiologis makanan yang dikeluarkan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan.

Berdasarkan tabel nilai MPN seri 3 tabung yang mempunyai nilai MPN 0-1-0, dimana indeks MPN per 25 gram sampel adalah 3+ APM/gram. Kalau berdasarkan SNI 01-3707-1995 untuk abon dan SNI 01-3543-1994 untuk kecap bahwa batas cemaran MPN *Coliform* per gram sampel adalah Maks 10 APM/gram untuk abon dan 10^2 APM/gram untuk kecap. Nilai indeks MPN ini menunjukkan bahwa kedua sampel memenuhi standar mutu yang dikeluarkan oleh Balai besar POM (nilai MPN 0-1-0 dengan indeks MPN *coliform* 3+ APM/gram). Hal ini disebabkan karena sumber air baku yang digunakan dalam proses produksi dan pengolahan masih baik dalam arti belum tercemar serta proses sterilisasi yang digunakan sudah memenuhi standar.

c. Uji MPN *Eschericia coli*

Bakteri patogen dapat menimbulkan infeksi dan keracunan makanan. Infeksi disebabkan mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung bakteri patogen yang tumbuh dalam saluran usus. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan keracunan pada pangan adalah *Escherichia coli*.

Oleh sebab itu, adanya *E. coli* dalam pangan menimbulkan dampak yang besar. Sehingga perlu adanya standar maksimum *Escherichia coli* dalam bahan pangan. Salah satu caranya yaitu dengan pengujian mikrobiologis akan kehadiran bakteri *E. coli*.

Metode ini digunakan untuk menetapkan angka paling mungkin (MPN) *Escherichia coli* dalam makanan dan minuman. Dimana menumbuhkan koloni bakteri *Escherichia coli* setelah cuplikan diinokulasi pada media MCB dengan

mengamati adanya reaksi fermentasi dan pembentukan gas didalam tabung Durham, dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi *E.coli*. Pengujian ini dilakukan dengan dua tahap yaitu uji presumtif dan uji konfirmasi. Untuk identifikasi *E. coli* dilakukan pemeriksaan biokimia yaitu uji Indol, uji MR-VP, uji Voges Proskauer, dan Uji Sitrat.

Pengujian Angka Paling Mungkin (MPN) *E. coli* kecap pada uji presumptif dengan media MCB menunjukkan hasil positif yaitu menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kekuning-kuningan dan terbentuk gas dalam tabung durham yaitu tabung I pada pengenceran 10^{-2} serta tabung I dan tabung III pada pengenceran 10^{-3} .

Selanjutnya tabung yang menunjukkan hasil biakan positif dilakukan uji konfirmasi untuk meyakinkan apakah biakan positif tersebut merupakan jenis bakteri *E. coli* dengan media ECB (*Echerichia coli broth*). Tabung menunjukkan hasil positif ialah tabung yang terdapat gelembung gas dalam tabung durham. Hasil biakan positif dicocokkan dengan Tabel MPN atau Hoskin J.K untuk menentukan MPN dari *E.coli*/25 gram sampel.

Dari uji konfirmasi didapatkan tabung yang menunjukkan hasil positif yaitu tabung I pengenceran 10^{-2} dan pengenceran 10^{-3} . Sehingga didapatkan kombinasi hasil tabung positif yaitu 0 1 0. Dan setelah dirujuk pada tabel MPN seri 3 tabung menunjukkan hasil 3^{+} APM/gram. Karena hasil uji konfirmasi tidak ada yang menunjukkan hasil positif maka tidak dilakukan uji identifikasi *Escherichia coli* seperti uji Indol, uji MR-VP, uji Voges Proskauer, Uji Sitrat.

Apabila pada tahap uji konfirmasi menunjukkan hasil positif maka dilakukan uji biokomia. Uji ini bertujuan untuk membedakan jenis bakteri *Coliform*. Uji Biokimia yang dilakukan yaitu uji Indol, uji MR-VP, uji Voges Proskauer, Uji Sitrat atau disebut juga Uji IMViC.

Untuk mengetahui proses tahap konfirmasi yaitu uji biokimia maka dilakukan pengujian IMViC. Sampel yang dilakukan pengujian yaitu kontrol positif. Hasil pengujian dilihat pada tabel sebagai berikut

Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Kontrol Positif *Escherichia coli*

Uji Biokimia	Keterangan
Uji Indol	Positif (+)

Uji MR-VP	Positif (+)
Uji Voges Proskauer	Negative (-)
Uji Sitrat	Negative (-)

Uji Indol menggunakan media Tryptone Broth dan penambahan larutan Kovacs. Dimana larutan Kovacs mengandung amil alkohol sehingga adanya indol akan menyebabkan amil alkohol berubah warnanya menjadi merah tua (Fardiaz, 1993). Dikatakan positif apabila membentuk warna merah pada permukaan medium.

Menurut Fardiaz, 1993 uji indol menunjukkan bahwa bakteri yang tergolong dalam grup fekal yaitu *E. coli* dapat memecah asam amino triptofan. Adanya enzim triptopanase pada bakteri ini akan memecahkan asam amino triptopan dan amoniak. Dalam metabolismenya bakteri ini menggunakan tryptophan sebagai sumber energi. Indol adalah produk sisa dengan bau fecal.

Uji MR-VP ini menggunakan media MR-VP dan penambahan larutan merah metil sebagai indikator pembentukan asam. Hasil uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil uji negative. Diketahui bahwa selama fermentasi *E. coli* menghasilkan asam yang dapat menurunkan pH media yang menyebabkan indikator merah metil menjadi berwarna merah.

Uji Voges Proskauer digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Beberapa bakteri memfermentasi glukosa dan menghasilkan berbagai produk bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH media pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah. Dalam pengujian ini ditambahkan larutan Alfa naftol dan larutan Kalium Hidrokarbon pada pengamatan. Hasil uji positif ditunjukkan terbentuknya warna merah muda sebagai penunjuk terbentuknya asetil metil karbinol (asetoin). Asetoin merupakan suatu hasil samping dari metabolisme karbohidrat. Sedangkan hasil negative tidak terbentuk warna merah muda.

Hasil uji Voges-Proskauer menunjukkan reaksi negatif pada semua tabung. Tabung MR-VP tidak memperlihatkan perubahan warna setelah penambahan reagen. Hal ini membuktikan bahwa *E. coli* tidak membentuk asetil metil karbinol. Menurut Fardiaz, 1993 *Escherichia coli* tidak membentuk asetil metil karbinol sehingga pada uji Voges Proskauer sebagai identifikasi adanya *E. coli* tidak terjadi perubahan warna atau hasil uji negative.

Uji sitrat ini bertujuan untuk mengetahui penggunaan sitrat sebagai sumber karbon. Uji ini menggunakan media *Simmon's Citrate Agar*. Adanya pertumbuhan

yang menunjukkan penggunaan sitrat sebagai sumber karbon dapat dilihat dari timbulnya kekeruhan dan perubahan warna didalam media. Hasil uji positif ditunjukkan adanya pertumbuhan pada permukaan agar miring disamping berubahnya warna medium menjadi biru. Sedangkan hasil uji negative ditunjukkan tidak adanya pertumbuhan dan tidak ada perubahan warna atau medium berwarna hijau

Dari uji yang dilakukan diperoleh hasil yang negatif berarti *E. coli* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sehingga untuk identifikasi adanya *Escherichia coli* pada Uji Sitrat menunjukkan tidak ada pertumbuhan dan tidak ada perubahan warna. Menurut Supardi dan Sukanto, 1999 bakteri *Escherichia coli* dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon, tetapi tidak dapat menggunakan sitrat.

Sesuai dengan hasil rujukan tabel MPN bahwa menunjukkan hasil < 3 APM/gram maka hasil ini telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan pada SNI 01-3543-1994 dimana mensyaratkan jumlah maksimal bakteri *E.coli* pada kecap adalah < 3 APM/gram.

Hasil ini menunjukkan bahwa sanitasi pengolahan telah dilakukan secara higienis dan kondisi ini menunjukkan mutu kecap telah sesuai dengan SNI 01-3543-1994 Kecap dan aman untuk dikonsumsi.

d. Uji Angka Kapang

Produk tanaman pangan seperti sereal dan kacang-kacangan, misalnya kedelai merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba, khususnya kapang (jamur/cendawan). Kapang merupakan mikroba terdiri lebih dari satu sel berupa benang-benang halus yang disebut hifa, kumpulan hifa disebut miselium, berkembang biak dengan spora. Dimana jenis kapang ini yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Ada jenis kapang yang dapat menghasilkan aflatoxin dan bersifat toksik bagi manusia. Sehingga untuk produk olahan dari kacang-kacangan harus memenuhi syarat batas kapang dalam produk olahan tersebut sesuai standar yang disyaratkan.

Pengujian cemaran kapang dari sampel kecap yaitu dengan metode uji angka kapang. Pengujian ini digunakan untuk menetapkan angka kapang dalam makanan dan minuman. Dimana pertumbuhan kapang setelah cuplikan diinokulasikan pada media PDA dan diinkubasi pada suhu 20°C-25°C. Adanya kapang dalam bahan

pangan dapat mempengaruhi umur simpan dan penurunan kualitas produk hasil olahan pangan.

Pada pengujian ini akan diketahui seberapa besar cemaran kapang pada sampel kecap. Metode yang digunakan adalah metode uji angka kapang total, dengan menghitung koloni kapang pada serial pengenceran sampai 10^{-5} . Media padat yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme ialah PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan tambahkan kloramfenikol. Kloramfenikol digunakan sebagai larutan standar antibiotik, penambahan larutan ini bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan mikroorganisme aerob dapat diamati setelah contoh diinkubasikan dalam media agar pada suhu 20°C - 25°C selama 5 hari. Penentuan jumlah kapang dilakukan dengan cara metode cawan agar sebar (*spread plate*). Penghitungan jumlah koloni kapang/khamir yang tumbuh pada media dilakukan sesuai cara penghitungan yang ditetapkan dalam prosedur operasional baku pengujian mikrobiologi oleh Balai Besar POM. Dari hasil perhitungan jumlah kontaminasi kapang melalui uji angka kapang dari sampel kecap diketahui bahwa tidak ada pertumbuhan koloni kapang pada media PDA. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya koloni kapang yang tumbuh pada media PDA. Bila suatu koloni disebut koloni kapang yaitu terlihat seperti kapas atau bulat dengan berbagai warna, permukaan kasar, bentuk bulat kecil, putih, hampir menyerupai bakteri.

Hasil pengujian Angka Kapang dibandingkan dengan standar uji cemaran mikroba SNI 01-3543-1994 yaitu angka kapang maksimal pada kecap adalah 50 koloni/gram. Hasil uji angka kapang pada kecap dapat dilihat pada tabel berikut ini

Hasil pengujian angka kapang dinyatakan hasilnya sebagai < 10 koloni/gram. Hal ini menunjukkan bahwa angka kapang pada kecap telah memenuhi standar dan aman untuk dikonsumsi sesuai yang disyaratkan pada SNI kecap SNI 01-3543-1994 yaitu angka kapang maksimal pada kecap adalah 50 koloni/gram. Sehingga produk olahan kedelai ini tidak mengandung aflatoksin dan aman untuk dikonsumsi.

BAB V

PENUTUP

Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari magang yang telah dilaksanakan ini, berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan di atas adalah sebagai berikut:

1. Balai Besar POM Yogyakarta merupakan salah satu Unit Pelaksana Teknis (UPT) Badan POM yang mempunyai peranan penting sebagai perpanjangan tangan dari Badan POM dalam melaksanakan kebijakan di bidang pengawasan produk terapan, narkotika, psikotropika dan zat adiktif lain, obat tradisional, kosmetika, produk komplemen, keamanan pangan dan bahan berbahaya.
2. Pengujian produk pangan mengacu kepada persyaratan makanan yang telah ditetapkan dan metode yang digunakan sesuai dengan persyaratan yang diacu.
3. Pengujian mikrobiologis abon ikan tuna sesuai persyaratan Abon Ikan Tuna (SNI 01-3707-1995) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN *coliform*, identifikasi *Salmonella*, angka *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pengujian mikrobiologis Kecap sesuai persyaratan Kecap (SNI 01-3543-1994) meliputi Angka Lempeng Total (ALT), MPN *coliform*, MPN *Escherichia coli*, angka kapang.
4. Metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Pengujian metode kuantitatif yaitu dengan perhitungan jumlah mikroba pada sampel. Sedangkan metode kualitatif dilakukan pengkayaan atau perbanyakan (*enrichment*). Identifikasi mikroba dilakukan dengan cara konvensional dan pengujian cara cepat, disamping menggunakan reaksi biokimia.
5. Sebagai tindakan pengawasan mutu secara mikrobiologis produk pangan, maka dilakukan pengujian secara laboratorium dan menyimpulkan hasil pengujian tersebut dengan hasil pengujian yaitu sampel Abon Ikan Tuna tidak memenuhi syarat (TMS) sesuai SNI 01-3707-1995. Sedangkan sampel Kecap telah memenuhi syarat (MS) yang telah disyaratkan dalam SNI 01-3543-1994.

Saran

Dari hasil observasi, pembahasan dan praktek magang yang dilakukan, maka disarankan kepada Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan :

1. Salah satu indikator mutu dan keamanan yang lazim digunakan adalah bahaya mikrobiologi yang jenis dan jumlahnya dalam makanan atau minuman dapat menentukan

mutu dan keamanannya. Oleh karena itu perlu diperhatikan pengujian jenis bakteri yang relevan dan metode pengujian yang terjamin mutunya sehingga hasil pengujian dapat dipertanggungjawabkan kepada khalayak.

2. Pangan mempunyai cakupan yang luas, oleh karena itu harus dilakukan upaya untuk mencegah pangan dari kemungkinan tercemar baik dari cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia.
3. Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan seyogyanya mewajibkan produsen pangan untuk memeriksakan produknya ke laboratorium yang telah diakreditasi minimal tiap enam bulan dan melaporkan hasilnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, Eddy. 2008. *Pengawasan Mutu Bahan/Produk Pangan Jilid 2 untuk SMK*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta. http://ftp.lipi.go.id/pub/Buku_Sekolah_Elektronik/SMK/Kelas%20XI/Kelas%20XI_smk_pengawasan-mutu-bahan-produk-pangan_eddy.pdf.pdf. Diakses tanggal 5 Maret 2010.
- Anonim^a. 2010. *Abon Ikan*. <http://id.wikipedia.org/wiki/abon> ikan. Diakses tanggal 27 Maret 2010.
- Anonim^b. 2008. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi*. Universitas Jendral Soedirman Purwokerto.. Petunjuk Praktikum. Pdf. http://www.freewebs.com/_mikrodas/PETUNJUK%20PRAKTIKUM.pdf. Diakses pada tanggal 25 Februari 2010.
- Anonim^c. 2007. *Mikrobiologi Pangan*. <http://ilmupangan.com/index.php>. Diakses pada tanggal
- Anonim^d. 2009. *Aktivitas Biokimia Mikroorganisme*. <http://rgmaisya.files.wordpress.com/2009/05/aktivitas-biokimia-mikroorganisme.pdf>. Diakses pada tanggal 4 April 2010.
- Anonim^e. 2009. *Salmonella Pada Telur Bebek dan Cara Mendiagnosanya*. <http://duniaveteriner.com/2009/06/salmonella-pada-telur-bebek-dan-cara-mendiagnosanya/print>. Diakses pada tanggal 26 Maret 2010.
- Aulia, I. A. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik daun Arbena (Duchesnea indica(Andr.) Focke) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas aeruginosa Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya..* http://mfi.farmasi.ums.ac.id/files/news/4_K10040115.pdf. Diakses tanggal 18 Maret 2010.
- BPOM. 2007. *Pengujian Mikrobiologi Pangan..* <http://perpustakaan.pom.go.id/KoleksiLainnya/InfoPOM/0207.pdf>. Diakses tanggal 26 Maret 2010.
- Buckle, K, A. A Edwards, G. H. Fleet and M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. Penerjemah Purnomo Hari. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Dewanti, R dan Hariyadi. 2005. *Bakteri Indikator Sanitasi dan Keamanan Air Minum*. http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_fdsf_bctrindktr.php. Diakses tanggal 11 April 2010.
- Dwiari, S. R, Asadayanti, D. D, Nurhayati, Sofyaningsih M, Frida, S. A. R. Yudhanti, Ketut I Bagus, W. Y. 2008. *Teknologi Pangan Jilid 1 untuk SMK*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta. http://ftp.lipi.go.id/pub/Buku_Sekolah_Elektronik/SMK/Kelas_X/Kelas_X SMK teknologi_pangan_sri-rini-dwiari.pdf. Diakses tanggal 5 Maret 2010.
- Fardiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- , 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fathir, F. 2009. *Media Pertumbuhan Mikroba*. http://fuadfathir.multiply.com/journal/item/2/Media_Pertumbuhan_Mikroba. Diakses tanggal 10 April 2010.

- Isrina, S. O. S, M. Wibowo, H, dan Khusnan. 2005. *Karakteristik Fenotipe Isolat Staphylococcus aureus Dari Sampel Susu Sapi Perah Mastitis Subklinis*. <http://jvs.ugm.ac.id/pdf/vol232/Isrina.pdf>. Diakses pada tanggal 26 Maret 2010.
- Jutono, J. S, Hartadi, S, Kabirun . S.S, Suhadi, D, Judoro dan Soesanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Koswara, S. 1997, *Mengenal makanan tradisional: hasil olahan kedelai*, Buletin Teknologi dan Industri Pangan 8(2):75-76. Direktorat Gizi Depkes RI. Jakarta.
- Nuria, Cut. M, Rosyid A, dan Sumantri. 2009. *Uji Kandungan Bakteri Escherichia coli pada Air Minum Isi Ulang dari Depot Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Rembang*. Mediagro Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Vol. 5. No. 2. Hal 27-35.
- Purwanti, M. 2004. *Control Salmonella Dari Peternakan Ayam Broiler Sampai Ke Meja Makan*. <http://www.findtoyou.com/ebook/ternak-ayam-page-7.html>. Diakses pada tanggal 11 April 2010.
- Ramadhany Dedy dan Amiruddin. 2008. *Uji Biokimia Mikroba*. Mahasiswa Biologi 06 FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda. <http://dydear.multiply.com/journal/item/2>. Diakses pada 26 Maret 2010.
- Setyo, Andy. 2008. Jenis Media Isolat. Universitas Airlangga Perikanan. <http://Word Press. Com>. Diakses tanggal 11 April 2010.
- SNI 01-3707-1995. *Abon*. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- SNI 01-3542-1994. *Kecap*. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- SNI 07-2332-2009. *Cara Uji Mikrobiologi Perhitungan Kapang dan Khamir pada Produk Perikanan*. Dewan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Supardi, Imam dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni. Bandung.
- Suryani Ani, Erlina Hambali, dan Encep Hidayat. 2007. *Membuat Aneka Abon*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Thayib, S dan Abu Amar. 1989. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Teknologi Indonesia. <http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:mV4ZHsuzw7QJ:118.98.163.253/download/view.php%3Ffile%3D47.1818.pdf>. Diakses pada tanggal 18 Maret 2010.
- Widiyanti, Ni Luh. P. M dan Ristiati, Ni Putu. 2004. *Analisis Kualitatif Bakteri Coliform pada Depo Air Minum Isi Ulang di Kota Singaraja Bali*. http://www.ekologi.litbang.depkes.go.id/data/vol%203/Ni%20Putu%20_2.pdf. Diakses pada tanggal 26 Maret 2010.
- Wijayanti, S. 2009. *Identifikasi dan Pemeriksaan Jumlah Total Bakteri Susu Sapi Segar dari Koperasi Unit Desa di Kabupaten Boyolali*. <http://www.pdfqueen.com/pdf/ma/makalah-tentang-pedagang-kaki-lima/>. Diakses tanggal 26 Maret 2010.